

Untersuchungen zur Maillard-Reaktion
und
Umsetzungen von Aminen mit
1-Nitro-2-Dimethylaminoäthylen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von
Brigitte Heidenhain
aus Königsberg/Pr.

1967

Marburg/Lahn 1966

Untersuchungen zur Maillard-Reaktion
und
Umsetzungen von Aminen mit
1-Nitro-2-Dimethylaminoäthylen



INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von
Brigitte Heidenhain
aus Königsberg/Pr.

Marburg/Lahn 1966

Untersuchungen zur Maillard-Reaktion
und
Umsetzungen von Aminen mit
1-Nitro-2-Dimethylaminoäthyl



INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erhebung der Doktorwürde
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg

Als Dissertation angenommen am: 9.1.1967

Berichterstatter: Professor Dr. Th. Severin

Mitberichterstatter: Professor Dr. H. Böhme

Tag der mündlichen Prüfung: 1.2.1967

vorgelegt von
Brigitte Heidenreich
aus Kempten

Inhaltsübersicht

	Seite
I) Theoretischer Teil	
A) Beitrag zur Aufklärung der Maillard-Reaktion	7-39
1) Übersicht über die vorliegende Literatur	7-16
2) Untersuchungen über die Bildung von β -Carbolinderivaten bei der Reaktion von Tryptophan mit Zuckern bzw. Furanderivaten.	17-39
a) Modellreaktionen mit Tryptamin und Gly- cerialdehyd bzw. Dioxyaceton.	18-20
b) Modellreaktionen mit Tryptamin und Furfurol bzw. Hydroxymethylfurfurol.	20-28
c) Dünnschichtchromatographische Untersuchung der Reaktionsprodukte von Tryptamin und Arabinose. Nachweis von 3,4-Dihydro- β - carbolin nach der Oxydation des Reaktions- gemisches mit Na-perjodat.	28-39
3) Zusammenfassung	39
B) Umsetzungen von 1-Nitro-2-dimethylaminoäthylen mit Aminen.	40-62
1) Diskussion eines geeigneten Reagenses für die Trennung und Unterscheidung von Aminen bei der dünnschichtchromatographischen Untersuchung.	40-46

2) Umsetzungen von 1-Nitro-2-dimethylamino- äthylen mit sekundären Aminen und pri- mären aromatischen Aminen.	46-49
3) Umsetzungen von 1-Nitro-2-dimethylamino- äthylen mit primären aliphatischen Aminen. Kupplung des Reaktionsproduktes mit p-Nitrophenyldiazoniumsalz.	50-53
4) Versuche zur Methylierung der Anilino- nitroäthylene.	53-55
5) Oxydation der Kupplungsprodukte nach 3)	55-57
6) Aufklärung eines bei den Umsetzungen von 1-Nitro-2-dimethylaminoäthylen in Gegen- wart von K-alkoholat auftretenden Neben- produktes.	55-61
7) Zusammenfassung	61-62
II) Experimenteller Teil	65-85

Theoretischer Teil

Im Jahre 1912 beobachtete L.C.Maillard, daß beim Erwärmen von Zuckern mit Aminosäuren dunkelgefärbte Produkte unbekannter Zusammensetzung entstehen^{1,2)}. Seitdem hat es nicht an Bemühungen gefehlt, über den Ablauf und das Prinzip dieser Reaktion Aufklärung zu erlangen, zumal man in ihr die Ursache für die beim Erhitzen und bei der Lagerung von Nahrungsmitteln häufig beobachtete nichtenzymatische Bräunung annimmt. Zusammenfassend berichteten über die bisher gemachten Untersuchungen G.P.Ellis³⁾ und T.M.Reynolds⁴⁾.

Die ersten Arbeiten von L.C.Maillard⁵⁻⁷⁾ sowie in der folgenden Zeit von einer Reihe weiterer Arbeitskreise z. B. ⁸ u. ⁹⁾ beschäftigten sich nur mit den zur Reaktion kommenden Substanzen, nicht jedoch mit den Reaktionsprodukten. Es wurden Aminosäuren und Zucker in unterschiedlichen Kombinationen und Mengenverhältnissen miteinander erhitzt und die Anteile gemessen, die in die entstehenden schwarzen Produkte ("Humine" oder "Melanine") eingehen.

-
- 1) L.C.Maillard, Compt.rend. 154, 66 (1912)
 - 2) L.C.Maillard, Compt.rend. 155, 1554 (1912)
 - 3) G.P.Ellis, Maillard-Reaction in Advances in Carbohydrate Chemistry 14, 63-134 (1959) Academic Press
 - 4) T.M.Reynolds, Chemistry of Nonenzymatic Browning I in Advances in Food Research Vol 12 (1963) Academic Press
 - 5) L.C.Maillard, Compt.rend.soc.biol. 72, 599 (1913)
 - 6) L.C.Maillard, Ann.chim.(11), 5, 258 (1916)
 - 7) L.C.Maillard, Ann.chim.(11), 7, 113 (1917)
 - 8) R.A.Gortner u. G.E.Holm, a) J.Amer.chem.Soc. 37, 1631 (1915)
b) ibid 39, 2477 (1917)
c) ibid 42, 632 (1920)
d) ibid 42, 821 (1920)
e) ibid 42, 2379 (1920)
f) ibid 45, 1788 (1923)
 - 9) K.Kudo u. Y.Tamaki, J.chem.Soc.Jap.Ind.chem.Sect. 57, 249 (1954) (C.A. 49, 2764d)

Die zahlreichen auf diese Weise gemachten Reaktivitätsvergleiche der einzelnen Zucker und Aminosäuren haben recht unterschiedliche Ergebnisse gehabt^{1,6,10-19}). Es bestehen jedoch berechtigte Gründe, die Reaktivität der Zucker bei der Maillard-Reaktion mit der freien Verfügbarkeit ihrer Carbonylgruppen in Verbindung zu bringen¹⁰). Danach sind allgemein Pentosen reaktionsfähiger als Hexosen und diese wiederum reaktionsfähiger als Disaccharide. Ribose ist allen anderen Zuckern überlegen¹¹⁻¹⁴).

In Übereinstimmung mit derartigen Beobachtungen an der Maillard-Reaktion stehen nämlich Ergebnisse, die bei polarographischen Untersuchungen über den Anteil an freier Aldehydform in Zuckern gewonnen wurden¹⁵). Auch hier rangiert Ribose weit vor allen anderen Vergleichssubstanzen. Da Ribose in organischer Substanz und damit in allen Nahrungsmitteln allgegenwärtig ist, verdient dieser Hinweis auf ihre herausragende Reaktionsfähigkeit in diesem Zusammenhang besondere Beachtung.

10) S.Araya, J.Japan.Biochem.Soc. 19, 143 (1947)

11) N.R.Jones, J.Sci.Food Agr. 9, 672 (1958)

12) H.Li.A.Tarr, Food Technol. 8, 15 (1954)

13) A.Abrams u. H.Borsook, J.Amer.chem.Soc. 75, 6299 (1953)

14) G.P.Ellis u. J.Honeyman, J.chem.Soc.London 1952, 1490

15) S.M.Cantor u. Q.P.Peniston, J.Amer.chem.Soc. 62, 2113 (1940)

16) L.Grünhut u. J.Weber, Biochem.Ztg. 121, 109 (1921)

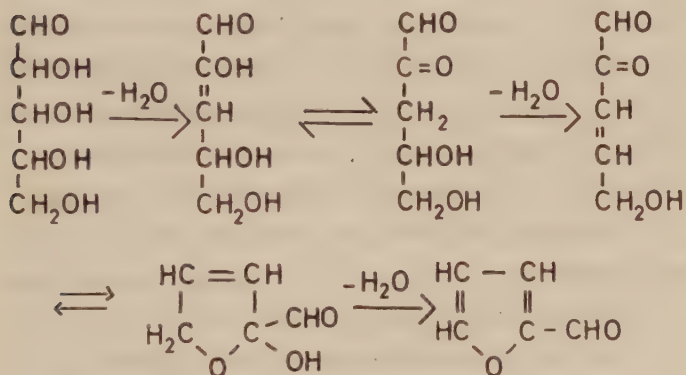
17) S.Hori, I.Kato et al., Nippon Nogu-kagaku Kaishi 31, 19 (1957) (C.A. 51, 17015 (1957))

18) M.L.Roxas, J.biol.Chem. 27, 71 (1916)

19) G.Haugaard u. L.Tumerman, Arch.Biochem.Biophys. 65, 86 (1956)

Entgegen früheren Annahmen, nach denen man zunächst den einfachen aliphatischen Aminosäuren^{1,6)} und später der Glutaminsäure¹⁶⁾ eine besondere Bedeutung zugemessen hat, nimmt man heute eine vorherrschende Beteiligung der aromatischen Aminosäuren Tryptophan und Histidin an^{8a,17-19)}.

Es ist bekannt, daß Zucker unter Säurekatalyse beim Erhitzen Furanderivate bilden. So wird Furfurol bei der bei 100° vorgenommenen Säurehydrolyse von industriellen Kohlenhydratabfällen in großen Mengen gewonnen. Man nimmt für diese Reaktion, bei der 3 Mol Wasser abgespalten werden, folgenden Ablauf an²⁰⁾:



Nach dem gleichen Mechanismus bildet sich 5-Hydroxy-methylfurfurol aus Hexosen. Es ist daher naheliegend, bei der nichtenzymatischen Bräunung von Lebensmitteln,

20) M.L.Wolf from et al., J.Amer.chem.Soc. 71, 3518 (1949)

bei der stets Kohlenhydrate höheren Temperaturen unterworfen werden, die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß nicht die Zucker, sondern deren Umwandlungsprodukte zur Reaktion gelangen. Tatsächlich sind zahlreiche Beobachtungen gemacht worden, die diese Theorie stützen²⁰⁻²³⁾.

So brachte eine reaktionskinetische Untersuchung von W.Diemair und E.Jury den Beweis, daß im pH-Bereich von 3,15-4,75 und bei der Temperatur von 70° Aminosäuren nicht mit Hexosen reagieren, dagegen leicht mit Hydroxymethylfurfurol²³⁾. M.L.Wolfrom et al.²⁰⁾ haben das Auftreten von Furfurol und Hydroxymethylfurfurol bei der Bräunung von Pentosen oder Hexosen U.V.-spektroskopisch nachgewiesen. Sie konnten auch zeigen, daß die Furfurolbildung durch die Gegenwart von Glycin begünstigt wird. Allgemein ist zu erwarten, daß Aminosucker leichter Furfurol-derivate bilden als einfache Zucker. Dies erklärt sich unter Zugrundelegung des oben skizzierten Reaktionsablaufs aus einer besonderen Begünstigung des zweiten wasserabspaltenden Schrittes, wenn die Ausgangsverbindung ein Amadori-Umlagerungsprodukt darstellt. Es liegt dann nach der Abspaltung des ersten Mols Wasser

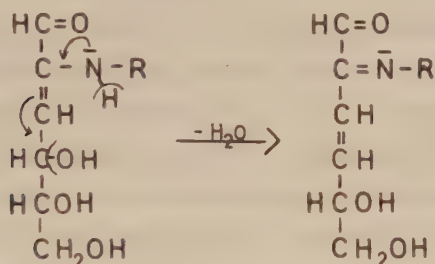
21) T.L.Tan et al., J.Amer.chem.Soc. 72, 5090 (1950)

22) A.R.Deschreider, a) Rev. fermentations et inds. aliment. 9, 25 (1954)

b) Ibid 9, 111 (1954)

23) W.Diemair u. E.Jury, Ztschr.f.Lebensm.Unters.u. Forschung, 127, 249 (1965)

ein Enamin vor. Von diesen ist zu erwarten, daß sie besonders leicht negative Substituenten am zur Aminogruppe γ -ständigen C-Atom abspalten:



Noch nicht gelungen ist die Darstellung definierter Reaktionsprodukte mit intaktem Furanring; es scheint, daß dieser im Verlaufe der nachfolgenden Reaktionsschritte zu den hochpolymeren braunen Produkten wieder zerbricht²⁴⁾. Dies ist vor allem von den Derivaten des Hydroxymethylfurfurols zu erwarten, da dieses gegen Einwirkung von Säuren äußerst instabil ist. Da außerdem die Bildung von Hydroxymethylfurfurol aus Hexosen bzw. Furfurol aus Pentosen über eine Reihe von Zwischenstufen verläuft, die Carbonylgruppen enthalten, kommen evtl. auch die Zwischenprodukte als reaktive Komponenten für die Maillard-Reaktion in Frage.

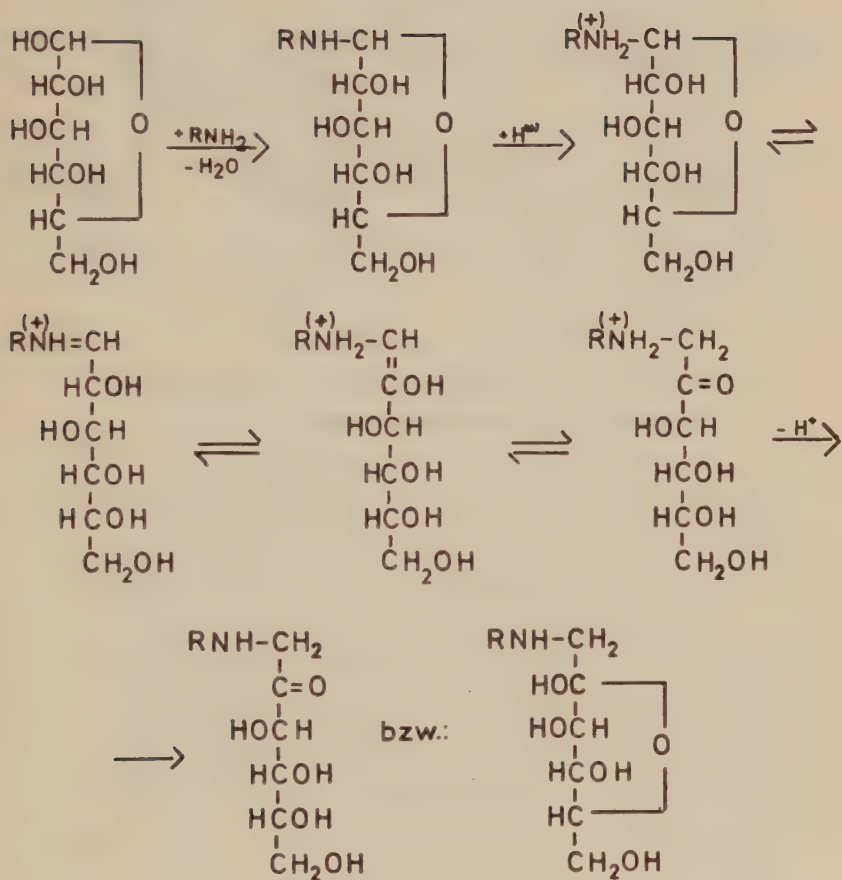
24) M.L.Wolfrom et al., J.Amer.chem.Soc. 75, 1013 (1953)

Alle Untersuchungen, die sich mit dem chemischen Ablauf der als sehr komplex erkannten Vorgänge beschäftigen, setzen als ersten Schritt die Reaktion der Zuckercarbonylgruppe mit der Aminogruppe der Aminosäuren voraus. In einer Vielzahl präparativer Arbeiten sind Aminosäuren mit Zuckern unter geeigneten Bedingungen umgesetzt worden und als erste greifbare Produkte sog. Amadori-Verbindungen isoliert worden. Deren Bildung sowohl aus Aldosen als auch aus Ketosen ist in allen Reaktionsschritten eingehend untersucht und theoretisch diskutiert worden. Eine zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse findet sich bei T.M.Reynolds⁴⁾.

In Kürze und ohne auf die näheren Einzelheiten der Reaktionsbedingungen oder Substituenteneinflüsse einzugehen, wird der Reaktionsablauf von R.Kuhn und F.Weygand wie folgt formuliert^{25, 26)}:

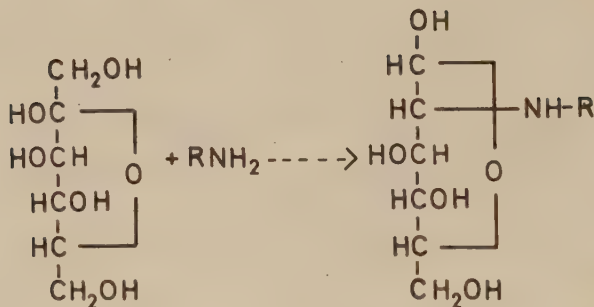
25) R.Kuhn u. F.Weygand, Ber.dtsch.chem.Ges.
70, 769 (1937)

26) F.Weygand, Ber.dtsch.chem.Ges. 73, 1259 (1940)



N-substituierte 1-Amino-1-desoxy-D-fructose

Entsprechend für Ketosen:

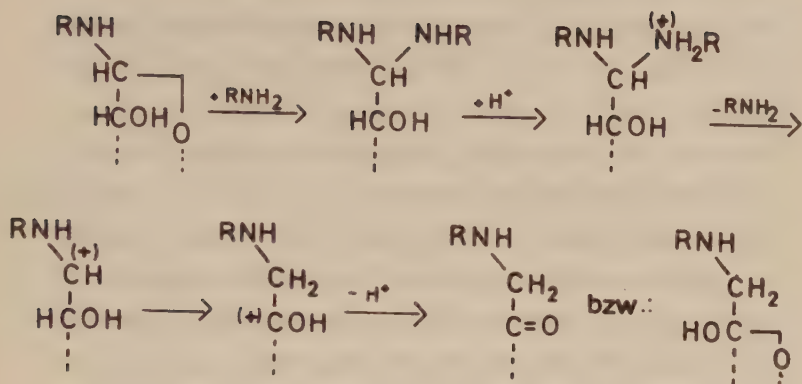


N-substituierte 2-Amino-2-desoxy-D-glucose

Es werden also aus Derivaten von Aldosen Derivate der in den C-Atomen 3,4 und 5 konfigurationsgleichen Ketosen gebildet und umgekehrt.

In jüngerer Zeit haben F.Micheel und I.Dijong²⁷⁾ diesem 1940 von R.Kuhn und F.Weygand aufgestellten Reaktionsmechanismus widersprochen und unter Berufung auf neue Versuchsergebnisse folgenden Mechanismus zur Diskussion gestellt, der mit Beteiligung eines weiteren Mols Amin abläuft:

27) F.Micheel u. I.Dijong, Tetrahedron Letters 1962, 21



Über die weiterführenden Reaktionen, die letztlich zu den unbekannten braunen Produkten führen, herrscht noch keinerlei Klarheit. Es sind zwar einige Untersuchungen über die Zersetzung der Amadori-Verbindungen angestellt, auch ein paar Summenformeln von isolierten einheitlichen braunen Pigmenten aufgestellt worden^{3,4)}, die Ergebnisse lassen sich jedoch noch nicht zu einer einigermaßen befriedigenden Theorie zusammenfassen.

Das Wesen der Reaktion liegt also nach wie vor im Dunkeln, zumal sich auch gegen den primären Schritt der Bildung von Amadori-Umlagerungsprodukten Einwände erheben lassen. Es sind nämlich derartige Verbindungen zwar in großer Zahl hergestellt worden, als Aminkomponenten sind im allgemeinen jedoch nur aliphatische und aromatische Amine, sowie einfache aliphatische Aminosäuren eingesetzt worden. Beschreibungen über die Reaktion mit aromatischen Aminosäuren liegen nur in den

Arbeiten von K.Heyns und H.Noack²⁸⁾ vor, wobei L-Tryptophan mit Hexosen in Dimethylsulfoxyd oder Methanol umgesetzt wurde. Auch hier sind die Amadori-Umlagerungsprodukte isoliert worden. Da jedoch der Indolkern sowohl in der α - als auch in der β -Stellung sehr reaktionsfähig gegenüber elektrophilem Angriff ist, erscheint es möglich, daß bei Umsetzungen von Tryptophan mit der Carbonylgruppe von Zuckern nicht nur die Aminogruppe der Seitenkette sondern auch der Indolkern an der Reaktion beteiligt ist. Demnach sollten zumindest als Nebenprodukte cyclische, den Carbolinen ähnliche Verbindungen zu erwarten sein. Die Amadori-Verbindungen von K.Heyns und H.Noack sind unter wasserfreien Bedingungen, ohne Zusatz von Säure und bei Reaktionstemperaturen von 40-60° hergestellt worden; so ist es nicht auszuschließen, daß im wäßrig-sauren Medium, das den natürlichen Bedingungen besser entspricht, die Cyclisierungsreaktion vor der Amadori-Umlagerung den Vorrang hat.

Die Klärung dieser Frage ist die Aufgabe der vorliegenden Arbeit.

Sollte der erste Reaktionsschritt tatsächlich in einer der Amadori-Umlagerung ausweichenden Reaktion bestehen, der in dieser Form vornehmlich für das Tryptophan zu erwarten ist, so wäre damit ein völlig neuer Ausgangspunkt für die Behandlung des Problems gegeben, zumal, wie schon erwähnt, dem Tryptophan und der ebenfalls

28) K.Heyns u. H.Noack, Chem.Ber. 97, 415 (1964)

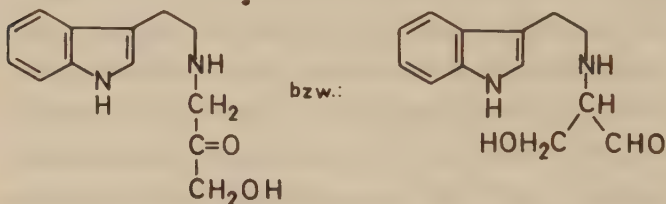
aromatischen Aminosäure Histidin von verschiedenen Autoren eine entscheidende Rolle bei der Maillard-Reaktion zugewiesen wird^{8a,17,18)}.

Um das präparative Arbeiten zu erleichtern, wurde bei den folgenden Untersuchungen allgemein Tryptamin statt Tryptophan eingesetzt. Es ist nämlich anzunehmen, daß Tryptophan und Tryptamin analog reagieren; denn solange die Carboxylgruppe des Tryptophans nicht die Acidität des Milieus bestimmt, dürfte sie die Reaktivität der Aminogruppe und des Indolkerns nur geringfügig beeinflussen. Da außerdem bei der Entstehung der braunen Pigmente eine deutliche CO_2 -Entwicklung beobachtet worden ist¹⁾, so ist sogar die Annahme berechtigt, daß in die Endprodukte der Bräunungsreaktion nicht die Aminosäuren, sondern die decarboxylierten Amine bzw. deren Umwandlungsprodukte eingehen.

Aus Tryptamin (1) und verschiedenen Aldehyden wurden bereits eine Reihe von Derivaten des 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolins dargestellt²⁹⁾. Diese Synthesen interessieren besonders in der Alkaloidchemie, da das β -Carbolin-Ringsystem in vielen Alkaloiden enthalten ist. Es wurde dabei durchweg in wäßriger neutraler oder saurer Lösung gearbeitet.

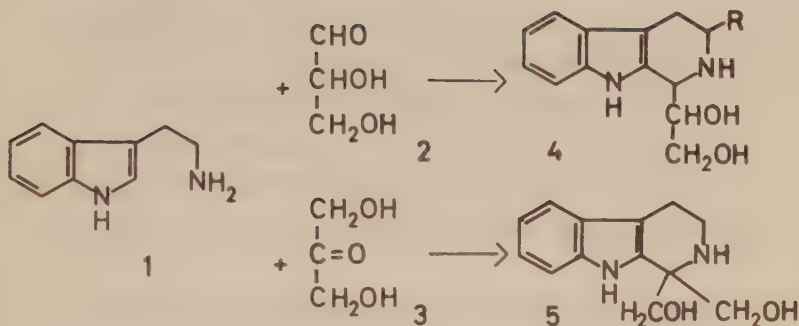
29) R.C.Elderfield, Heterocyclic Compounds Vol 7,
John Wiley + Sons, Inc. New York 1961

Ich übertrag die Reaktion zunächst auf die einfacheren Zuckermodelle Glycerinaldehyd (2) und Dioxyaceton (3). Sie wurden jeweils in wäßriger Lösung mit 1 Mol Tryptamin und 2 Mol Salzsäure 2 Stunden erhitzt. Die Reaktionsprodukte 4 und 5 waren farblose, kristalline Substanzen, die nach Elementaranalyse und IR-Spektren als Tetrahydro- β -carbolinderivate identifiziert werden konnten. Wären die Amadoriprodukte entstanden:



so sollten für die darin vorliegenden Carbonylgruppen in den IR-Spektren je eine starke Bande zwischen 1700 und 1730 cm^{-1} zu erwarten sein. Eine solche tritt aber weder im Spektrum von 4 noch in dem von 5 auf. Es ist also sowohl bei der Reaktion mit Glycerinaldehyd als auch mit Dioxyaceton der Ringschluß zum 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin eingetreten und nicht die Amadori-Umlagerung erfolgt.

a: R = -H
b: R = -COOH



Auch das Vorliegen Schiffscher Basen kann ausgeschlossen werden, da in den IR-Spektren C=N - Doppelbindungsbanden fehlen. (Die behandelten IR-Spektren erscheinen im experimentellen Teil).

Die analogen Verbindungen mit Arabinose und Glucose konnte ich nicht gewinnen. Dieser Mißerfolg kann auf die Schwierigkeiten der Isolierung zurückzuführen sein, die bekanntlich bei allen Zuckern und zuckerähnlichen Substanzen nicht unerheblich sind. Es ist aber auch möglich, daß die Reaktionsfähigkeit der Aldehydgruppen durch den vorliegenden Halbacetalring so weit herabgesetzt ist, daß die Reaktion nur in sehr geringem Maße abläuft. Es sei hier noch einmal auf die vorne referierten Beobachtungen über die relativen Reaktivitäten der einzelnen Zucker bei der Maillard-Reaktion hingewiesen (s.S.8).

Glycerinaldehyd und Dioxyaceton sind also nur bedingt als Modellssubstanzen für Zucker anzusehen.

Die beschriebene Reaktion mit Glycerinaldehyd wurde unter den gleichen Bedingungen auch mit Tryptophan durchgeführt. Durch Einstellen der Lösung auf pH 6 konnte ein farbloser kristalliner Niederschlag ausgefällt werden, der sich nach Umkristallisation aus Pyridin als 1-(1,2-Dihydroxyl-äthyl)-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin-carbonsäure-(3) (4b) erwies. Es ist daraus zu ersehen, daß sich Tryptamin und Tryptophan gleichartig verhalten.

Furfurol und Hydroxymethylfurfurol (6a u. b) kommt, wie oben bereits ausgeführt, wahrscheinlich eine wesentliche Rolle in den ersten Reaktionsprodukten der Bräunungsreaktion zu. Es besteht deshalb ein besonderes Interesse, die entsprechenden Derivate des Tryptamins rein darzustellen, um sie entweder als Ausgangssubstanzen für weitere Umsetzungen oder als Modellssubstanzen bei analytischen Untersuchungen einsetzen zu können.

Versuche, ein derartiges Reaktionsprodukt von Tryptamin und Furfurol zu gewinnen, sind schon mehrfach unternommen worden, bisher jedoch immer fehlgeschlagen. G.Hahn et al.³⁰⁾ erhielten zwar ein kristallines Kondensat, konnten es aber wegen seiner Unbeständigkeit nicht isolieren und weiter untersuchen. Sie hatten wie bei allen Tryptamin-Aldehyd Kondensationsreaktionen in wäßrig-saurem Milieu gearbeitet.

30) G.Hahn et al., Liebigs Ann.Chem. 520, 107 (1935)

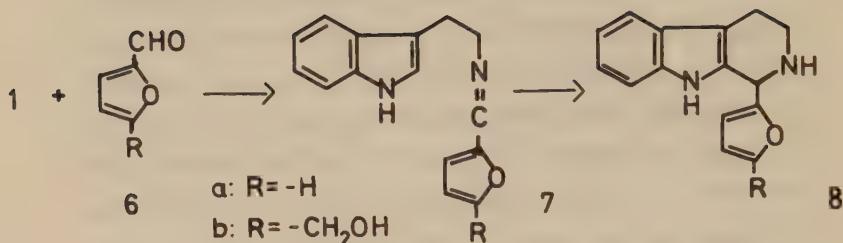
K.T.Potts und R.Robinson haben die Kondensation von Tryptamin und Furfurol zur entsprechenden Schiffschen Base (7a) beschrieben³¹⁾, die Cyclisierung zu Furyl-tryptamin (8a) mißlang ihnen jedoch.

Ich habe diese Reaktion wieder aufgegriffen. Die Azomethin-Verbindung 7a kann man in guter Ausbeute durch Erhitzen der Ausgangskomponenten in Benzol darstellen. Läßt man nun auf 7a bei 0° kurz Salzsäure einwirken, so erfolgt Ringschluß zum Furyl-β-carbolin 8a, das durch rasches Aufarbeiten in befriedigender Ausbeute gewonnen werden kann.

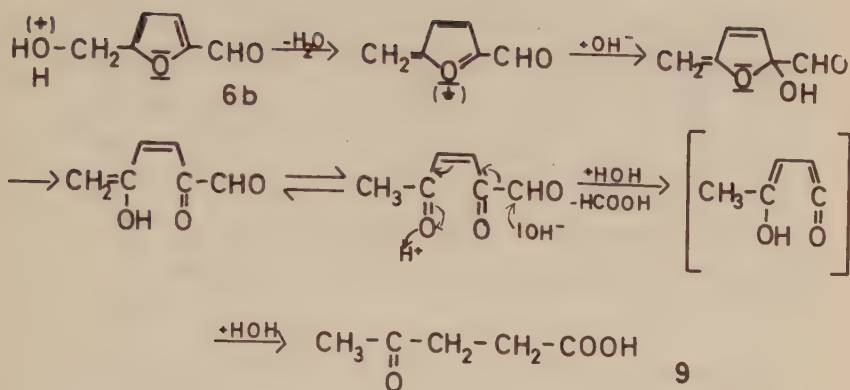
7a zeigt im IR-Spektrum eine ausgeprägte CN-Doppelbindungsbande bei 1640 cm⁻¹ (in KBr), die das Cyclisierungsprodukt 8a nicht mehr aufweist. (IR-Spektren siehe im experimentellen Teil). Dies sowie die Elementaranalyse und die Zusammensetzung der Acetylierungsprodukte von 7a und 8a stützen die angenommene Struktur. Es bildet nämlich 7a ein Monoacetylderivat, entsprechend einer NH-Gruppe (im Indolring), 8a dagegen ein Bisacetylderivat, was auf Grund der entstandenen zweiten NH-Gruppe im Tetrahydrocarbolinring zu erwarten ist.

In gleicher Weise konnte aus Hydroxymethylfurfurol (6b) und Tryptamin die Azomethin-Verbindung 7b und weiter das Tetrahydrocarboliderivat 8b erhalten werden.

31) K.T.Potts u. R.Robinson, J.Chem.Soc. London 1955, 2684

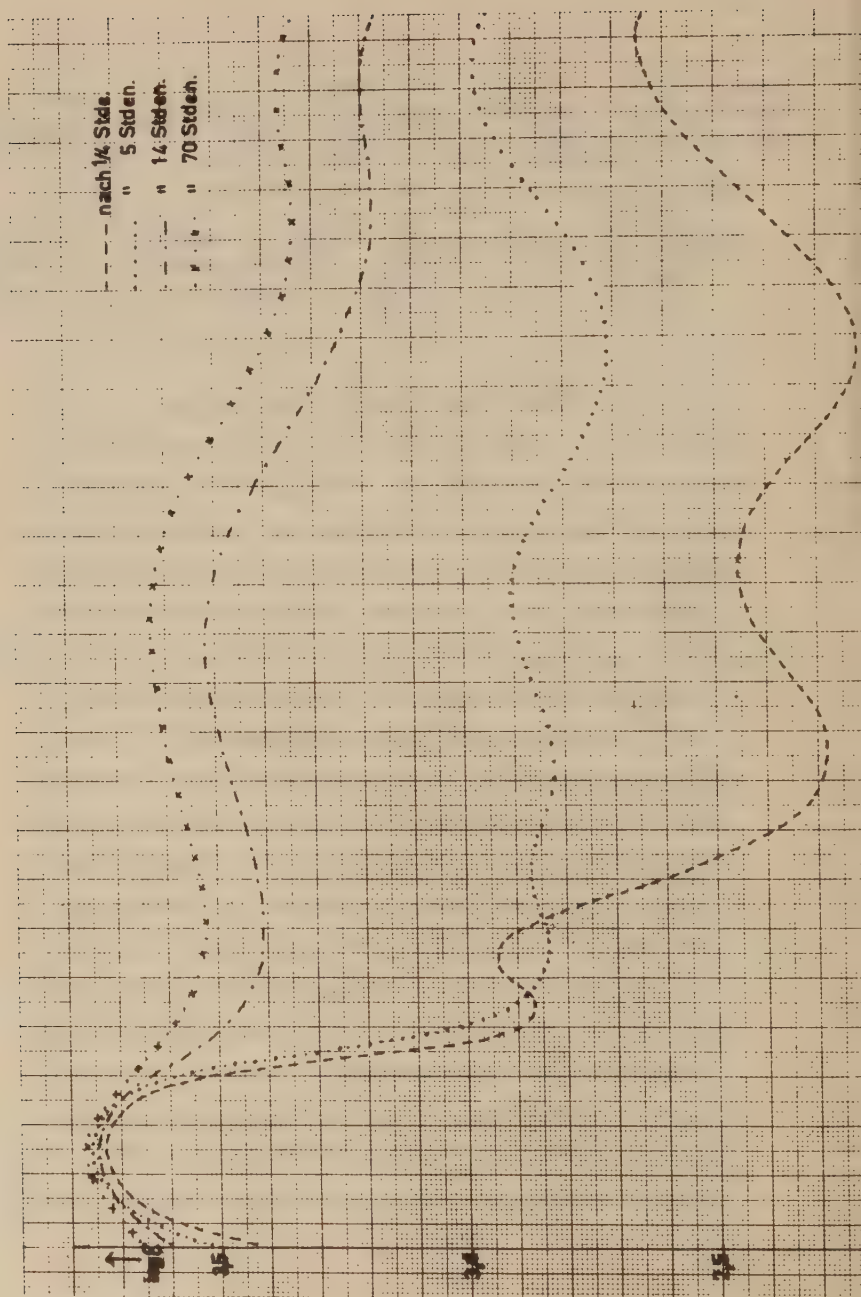


8a und 8b sind in fester Form beständig. In Lösung tritt insbesondere in Gegenwart von Säuren leicht Braunfärbung ein. Allerdings ist die Zersetzung zumindest beim Furyl-derivat 8a nicht so durchgreifend rasch und vollständig, wie der äußere Eindruck erscheinen läßt. Aus stark salzsauren Lösungen konnte noch nach 12-stündigem Stehenlassen 60 % der unzersetzten Verbindung gewonnen werden. Dies gelang jedoch beim Hydroxymethylfurfurol-Derivat 8b erwartungsgemäß nicht. Hydroxymethylfurfurol geht nämlich in saurer Lösung leicht in Lävulinsäure (9) und Ameisensäure über, wobei folgender Mechanismus in Erwägung zu ziehen ist:



Verfolgt man die Zersetzung von 8a durch Messung der Lichtabsorption von 220 mp - 520 mp, so zeigt sich eine auffallende Verstärkung der Absorption im Bereich von 350-500 mp. Da die entstehenden Kurven keine ausgeprägten Maxima und Minima aufweisen, ist mit einer Reihe von Reaktionsprodukten zu rechnen (s. Abb. 1).

Durch Einleiten von trockenem Chlorwasserstoff in eine Chloroform-Lösung von Furfyltetrahydrocarbolin (8a) gelang die Darstellung eines Hydrochlorides. Es war allerdings nur in trockenem Zustand und auch da nur begrenzt beständig. Beim Umkristallisieren aus einer Mischung gleicher Teile Methanol, Äther und Petroläther zersetzte sich der größte Teil. Immerhin ergab die getrocknete kristalline Substanz noch nach 3 Tagen eine richtige Elementaranalyse. Ohne jegliche Zersetzungserscheinungen ließen sich sowohl 8a als auch 8b in Pikrate überführen. Worauf der stabilisierende Einfluß



des Pikratanions beruht, ist nicht geklärt. Vielleicht liegt ein Elektronendonator-Acceptor Komplex vor zwischen dem Pikratanion als Acceptor und entweder dem Furan- oder dem Indolring als Donator. Für die Labilität der Furyltetrahydrocarboline gegenüber Säuren kann nämlich nicht nur das Furan- sondern auch das Indolsystem verantwortlich sein. Indole sind wie Pyrrole säureempfindlich; in beiden Fällen sind Di- und Trimerisationen beobachtet worden.

Die Tetrahydro- β -carboline 8a und 8b wurden durch Einwirkung von Salzsäure auf 7a und 7b erhalten. Es war nun zu prüfen, ob derartige Cyclisierungen auch in schwächer saurem Medium und bei höherer Temperatur eintreten, unter Bedingungen also, wie sie bei der Maillard-Reaktion meist angewendet werden. Das Kondensationsprodukt wurde dabei zwar nicht kristallin gewonnen, es ist aber der dünnschichtchromatographische Nachweis gelungen, daß 8a im Reaktionsgemisch vorgelegen hat.

Erhitzt man die Schiffssche Base 7a und Essigsäure (1:1) in Diäthylenglycoldimethyläther 15-60 Minuten auf 150°, so entstehen mehrere Produkte, die sich dünnschichtchromatographisch trennen lassen. Eine der entstehenden Verbindungen zeigt auch bei Verwendung verschiedener Fließmittel die gleichen Rf-Werte wie das Furyltetrahydrocarbolin 8a. Die vollständigen Chromatogramme sind in

Abb. 1 : UV-Spektrum von 1-Furyl-(2)-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin (8a) in 9n HCl
c = 0,25 x 10⁻³ molar d = 1 cm

Abbildung 2a und b wiedergegeben; und zwar ist beim Fließmittel I (Abb.2a) $R_f=3,6$ und beim Fließmittel II (Abb.2b) $R_f=6,0$. Als Absorptionsmittel wurde Kieselgel GF₂₅₄ Merck verwendet. Die dem Furyltetrahydrocarbolin entsprechenden Flecken zeigten in allen Fällen eine leuchtend gelbe Fluoreszenz bei 350 m μ und konnten dadurch gut von den übrigen unterschieden werden. Die Intensität der Fluoreszenz nahm deutlich zu, je später die Probe für das Chromatogramm dem Reaktionsgemisch entnommen worden war; es kann also auf eine Zeitabhängigkeit der Ausbeute an Furyltetrahydrocarbolin geschlossen werden.

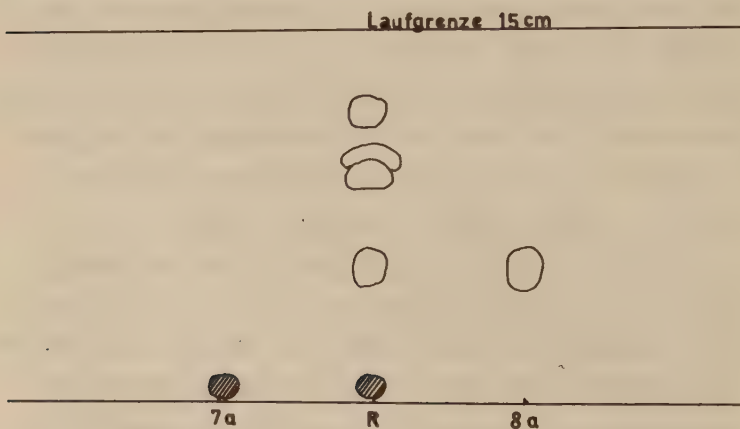


Abb. 2a: Chromatogramm der Reaktionsprodukte von N-Furfuryliden-Tryptamin mit 1 Mol Essigsäure bei 150°.

7a = N-Furfuryliden-Tryptamin

8a = 1-Furyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin

R = Reaktionsgemisch

= Flecken sichtbar durch Fluoreszenzlöschung bei 254 m μ . Die übrigen Flecken sichtbar durch Fluoreszenz bei 350 m μ .

Fließmittel I: Benzol+Aceton+konz.NH₃ 45+45+10
(Bereitung s.S.75)

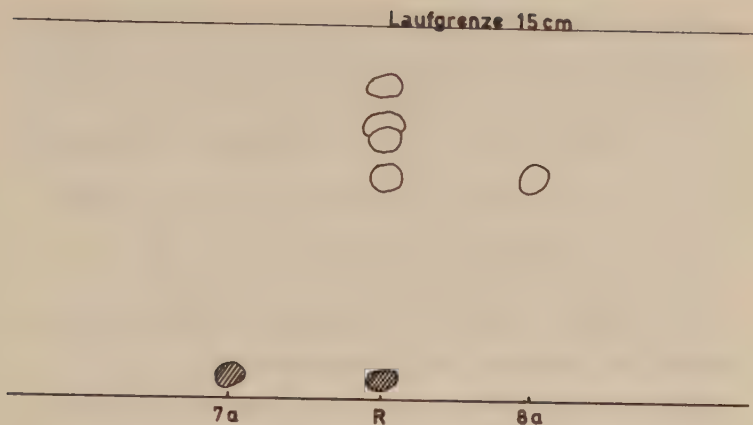


Abb. 2b: Fließmittel II: Tetrahydrofuran + Chloroform
+ konz. NH_3
70+20+10 (Bereitung s.S.76)
sonst vgl. Abb. 2a

Für eine weitere Erforschung des gesamten Problems der Maillard-Reaktion bietet sich die Dünnschichtchromatographie als Methode der Wahl an. Alle Anzeichen sprechen nämlich dafür, daß die Reaktion auf keinen Fall einen einheitlichen Verlauf nimmt, so daß mit Zwischenprodukten in großer Zahl gerechnet werden muß. Unter den natürlichen Bedingungen der nichtenzymatischen Bräunung fallen außerdem viele unkontrollierte Abbauprodukte sowohl der Zucker als auch der Proteine an, denen keine Reaktion mit einer anderen Substanz vorausgegangen ist. Der präparativen Isolierung einzelner definierter Produkte dürften also große Schwierigkeiten im Wege stehen. Es empfiehlt sich deshalb, theoretisch einleuchtende

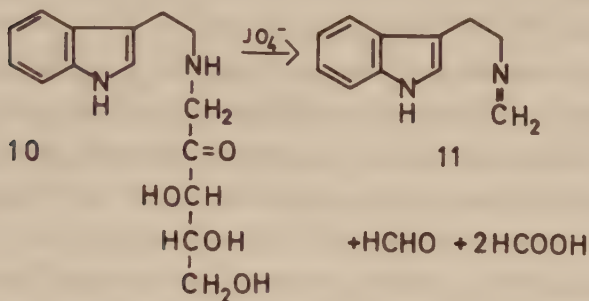
Reaktionswege zu konstruieren, die dabei auftretenden Zwischenprodukte auf geeignete Weise darzustellen und diese dünn-schichtchromatographisch mit den aus der Maillard-Reaktion hervorgegangenen Gemischen zu vergleichen. Einige derartige Modells-substanzen liegen bereits in den beschriebenen Verbindungen 4,5,7 und 8 vor.

Um die oben aufgeworfene Frage nach dem Kondensationsprodukt von Tryptamin und Zuckern zu klären, wurde ein weiterer Versuch unternommen, dem folgende Überlegung zu Grunde liegt:

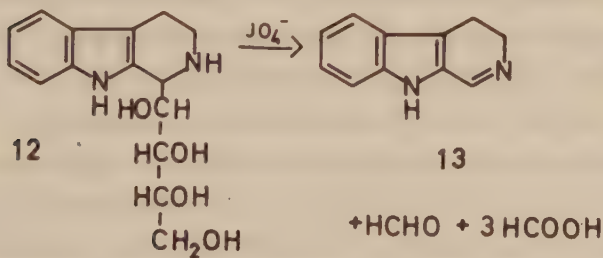
Sollte bei der Reaktion von Tryptamin mit einem Zucker nicht gleich ein Furanderivat entstehen, sondern der gesamte Zuckerrest mit allen Hydroxylgruppen im Primärprodukt enthalten sein, so ständen dessen chromatographischer Abtrennung vom restlichen Zucker sowie von Zuckerabbauprodukten erhebliche Hindernisse im Wege. Es ist deshalb wünschenswert, die Polyhydroxyalkan-Seitenkette von dem eigentlich zur Diskussion stehenden Reaktionszentrum abzutrennen. Eine Möglichkeit dazu ist der Perjodat-Abbau nach Malaprade, bei dem benachbarte Hydroxylgruppen und Aminogruppen oxydiert werden, wobei die Bindung der sie tragenden C-Atome aufgebrochen wird³²⁾.

32) R.Adams etc., Organic Reactions Vol II, 341
John Wiley + Sons, Inc. London 1949

Bei einem nach dem Modell von K. Heyns und H. Noack²⁸⁾ entstanden gedachten Amadori-Umlagerungsprodukt aus Tryptamin und Arabinose (10) müßte ein solcher Abbau zur Verbindung 11 führen:



Bei dem postulierten cyclischen Kondensationsprodukt 12 ist zu erwarten, daß 3,4-Dihydro- β -carbolin (13) entsteht:



Um zu prüfen, bei welchen Bedingungen sich diese Reaktion tatsächlich durchführen läßt, habe ich das aus Tryptamin und Glycerinaldehyd gewonnene Kondensationsprodukt

1-(1,2-Dihydroxy-äthyl)-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin (4a), das als Modells substanz für die Verbindung 12 zu betrachten ist, der Oxydation mit Na-perjodat unterworfen. Dabei wurde in erträglicher Ausbeute 13 gewonnen, dessen IR-Spektrum mit dem von Dihydro- β -carbolin aus Formyl-Tryptamin^{33a,b,c)} identisch war.

Bei dem zur Aufklärung des Reaktionsproduktes von Tryptamin und Arabinose unternommenen Versuch habe ich die Reaktionsbedingungen den natürlichen möglichst angepaßt. Tryptamin (1 Mol) und Arabinose (2 Mol) wurden in annähernd neutraler wäßriger Lösung (Essigsäure 1 Mol; 0,1 ml auf 5 ml Wasser) im Bombenrohr 2 Stunden auf 160° erhitzt. Das Reaktionsprodukt extrahierte ich sowohl aus dem vorliegenden sauren Milieu, als auch nach anschließendem Alkalisieren mit Natronlauge mit Methylenchlorid, um unumgesetztes Tryptamin sowie organische Nebenprodukte zu entfernen. Es ist anzunehmen, daß der Hauptteil des evtl. Tryptamin-Arabinose Kondensationsproduktes dabei in der wäßrigen Lösung bleibt.

Von den vor der Perjodat-Oxydation gewonnenen Auszügen wurden Dünnschichtchromatogramme hergestellt, diese jedoch keiner näheren Analyse unterzogen. Sie zeigen einige charakteristische Flecken, auf die für spätere Untersuchungen aufmerksam gemacht werden soll.

33 a) E.Späth u. E.Lederer, Ber.dtsch.chem.Ges.
63, 2109 (1930)

b) C.Schöpf u. H.Steuer, Liebigs Ann.Chem.
558, 132 (1948)

c) M.Onda u. M.Sasamoto, Pharm.Bull.Tokyo 5, 350 (1957)
(C.A. 52, 14631a (1958))

Insbesondere im Chromatogramm des Auszugs aus saurem Milieu fällt ein bei 350 m μ blau fluoreszierender Fleck auf, der folgende Rf-Werte hat: Fließmittel I: Rf=7,7 ; Fließmittel II: Rf=8,3 und Fließmittel III: Rf=8,5 (vgl. Abb. 3a-c).

Es fällt auf, daß der pH-Wert der Lösung beim Erhitzen abnimmt, und zwar steigt die Säurezunahme mit der Länge der Reaktionszeit erheblich an. Diese Beobachtung wurde schon früher bei Bräunungsreaktionen gemacht³⁴). Welcher Art die entstehenden Säuren sind, ist noch unbekannt. Die mit Methylenchlorid extrahierte wäßrige Lösung wurde mit Salzsäure auf einen pH von etwa 7 eingestellt und nach Zusatz von Na-perjodat (4 Mol NaJO₄/Mol Arabinose) 18 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die oxydierte Lösung wurde wieder zunächst aus saurem und anschließend aus alkalischem Milieu mit Methylenchlorid extrahiert. Das Chromatogramm des alkalischen Auszugs (in geringer Konzentration auch das des sauren Auszugs) zeigte tatsächlich Flecken mit gleichen Rf-Werten und gleicher Fluoreszenz wie Dihydro- β -carbolin (13) (vgl. Abb. 3a-c). Einzelheiten sind dem experimentellen Teil zu entnehmen.

Es ist zu beachten, daß alle zur Diskussion stehenden Substanzen, die das Dihydro- oder Tetrahydro- β -carbolingerüst enthalten, sich in Lösung langsam zersetzen.

34) S.Lewin, Biochem.J. 63, 14 (1956)

Die Chromatogramme der Vergleichssubstanzen zeigen bei Anwendung von frisch hergestellten Lösungen jeweils nur einen Fleck für die betreffende Substanz; nach längerem Stehen der Lösungen treten zusätzlich eine Reihe weiterer Flecken mit abweichenden Rf-Werten auf (vgl. Abb. 4a und b).

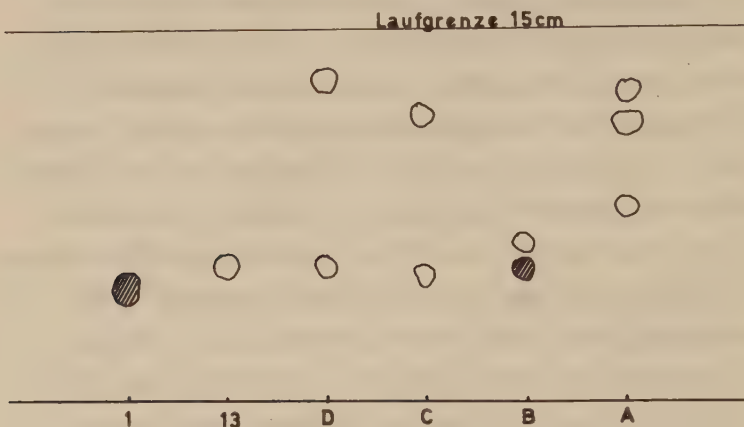


Abb. 3a: Chromatogramm der Reaktionsprodukte von Tryptaminacetat mit Arabinose bei 160° und deren Oxydationsprodukte mit Na-perjodat.

- 1 = Tryptamin
- 13 = 3,4-Dihydro- β -carbolin
- A = Methylenchlorid-Auszug aus dem Reaktionsgemisch von Tryptamin-acetat und Arabinose bei pH 6
- B = dto. bei pH 12-13
- C = Methylenchlorid-Auszug aus der mit Na-perjodat oxydierten Lösung bei pH 6-7
- D = dto. bei pH 12-13
-  = Flecken sichtbar durch Fluoreszenzlöschung bei 254 m μ . Die übrigen Flecken sichtbar durch Fluoreszenz bei 350 m μ . Fließmittel I: Benzol+Aceton+konz.NH₃ 45+45+10 (Bereitung s.S. 75)

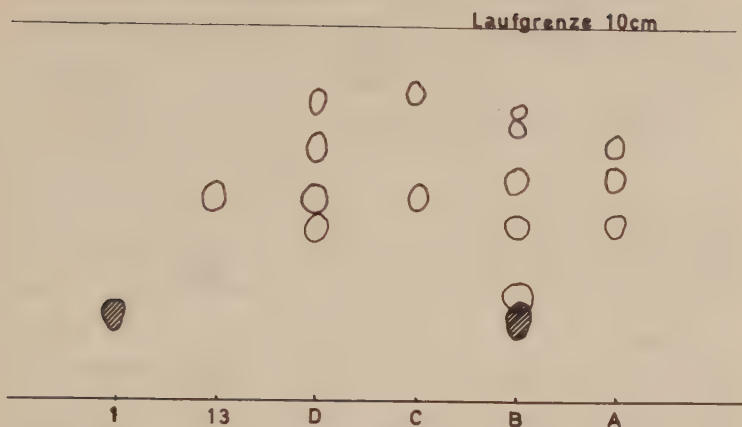


Abb. 3b: Fließmittel II: Tetrahydrofuran+Chloroform+
 konz.NH₃ 70+20+10
 (Bereitung s.S.76)
 sonst vgl. Abb. 3 a

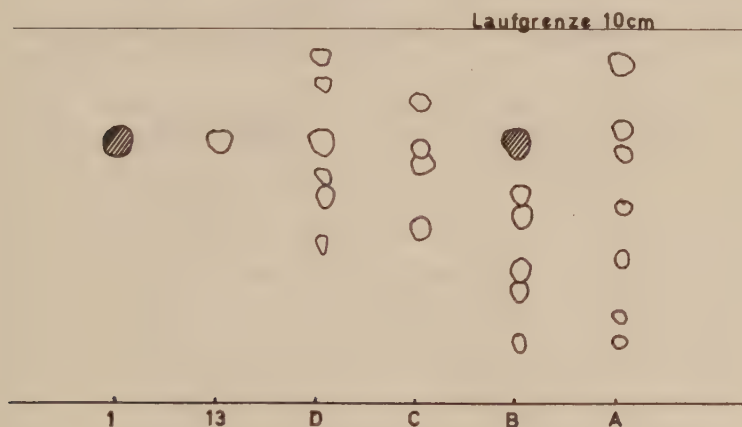


Abb. 3c: Fließmittel III: Aceton+Chloroform+konz.NH₃
 60+20+10 (Bereitung s.S.77)
 sonst vgl. Abb. 3a

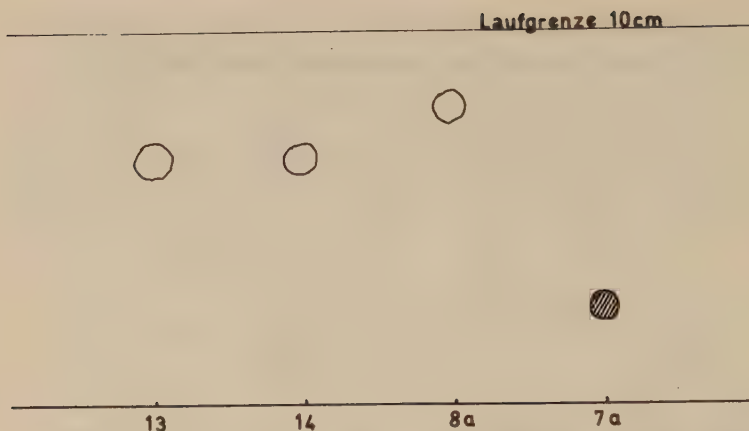


Abb. 4a: Chromatogramm der verwendeten Vergleichssubstanzen;
alle Lösungen in Methylenchlorid frisch bereitet.

13 = 3,4-Dihydro- β -carbolin

14 = 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin

8a = 1-Furyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin

7a = N-Furfuryliden-Tryptamin

Fließmittel IV: Tetrahydrofuran+konz.NH₃ 90+10
(Bereitung s.S.77)

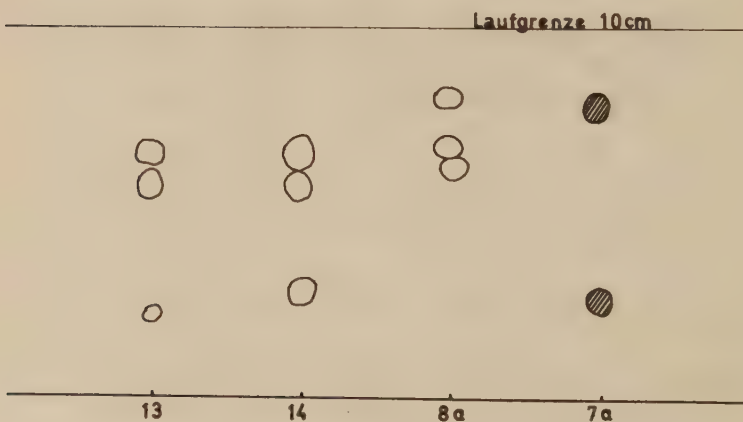


Abb. 4b: vgl. Abb. 4a

Alle Lösungen nach 24 stündigem Stehen eingesetzt.

Aus dem gewonnenen Untersuchungsergebnis erscheint der Schluß zulässig, daß Zucker mit Tryptamin bei hoher Temperatur zu Tetrahydro- β -carbolinderivaten reagieren. Die dabei in Betracht zu ziehenden Fehlerquellen sollen im folgenden diskutiert werden:

Es bestehen zwei verschiedene Möglichkeiten, auf die Tetrahydrocarbolin (14) in das Reaktionsgemisch gelangen kann. Dadurch würde das Versuchsergebnis entscheidend verfälscht, denn ich habe noch kein Fließmittel gefunden, das Dihydrocarbolin und Tetrahydrocarbolin auf Dünnschichtplatten befriedigend trennt; außerdem kann Tetrahydrocarbolin evtl. von Perjodat zu Dihydrocarbolin oxydiert werden.

Tetrahydrocarbolin kann durch Ringschluß aus der Schiffschen Base 11 entstehen, die als Perjodat-Oxydationsprodukt von der Amadori-Verbindung 10 als Alternative zu Dihydrocarbolin (13) zur Diskussion steht. Dieselbe Schiffsche Base kann aus evtl. noch in der Reaktionslösung vorhandenem Tryptamin und Formaldehyd, das bei Perjodat-Oxydationen von Zuckern entsteht, gebildet werden. Diese Reaktion verläuft bereits bei Zimmertemperatur sehr leicht; man verwendet sie sogar zu quantitativen Bestimmungen, wie der Titration von Aminosäuren, bei der man die Aminogruppe mit Formaldehyd maskiert³⁵⁾.

35) Houben Weyl Bd. II, 692
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1953

Die Anwesenheit von Tryptamin in der Lösung vor der Oxydation konnte durch dünnschichtchromatographische Überprüfung ausgeschlossen werden. Für die kritische Betrachtung der analytischen Ergebnisse muß jedoch in Betracht gezogen werden, daß möglicherweise die chromatographische Empfindlichkeit für die stark fluoreszierenden Carbolinderivate größer ist als für das durch Fluoreszenzlöschung nachgewiesene Tryptamin.

Zur Überprüfung, ob bei den gegebenen Reaktionsbedingungen wirklich die Schiff'sche Base 11 zu Tetrahydrocarbolin reagiert, wurde Tryptamin mit Formaldehyd unter den gleichen Bedingungen (saures Milieu, Zimmertemperatur) 18 Stunden lang mit Na-perjodat stehengelassen, wie das mit dem Tryptamin-Arabinose Reaktionsprodukt geschehen war. Das Chromatogramm des Methylenchloridauszugs aus der alkalisierten Lösung zeigte nicht die geringste Spur von Tetrahydro- bzw. Dihydro- β -carbolin. (vgl. Abb. 5) Eine Entstehung dieser beiden Substanzen aus dem Amadori-Produkt 10 oder aus Tryptamin und Formaldehyd ist also, selbst als Nebenreaktion, auszuschließen.

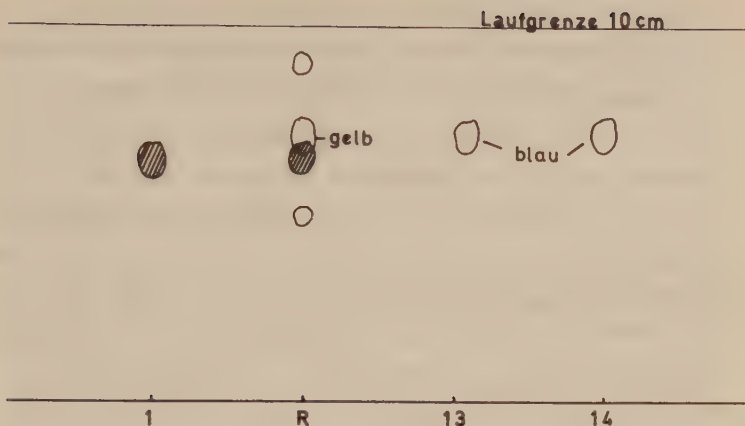


Abb. 5: Chromatogramm der Reaktionsprodukte von Tryptamin-acetat mit Formaldehyd bei Zimmertemperatur

1 = Tryptamin

13 = 3,4-Dihydro- β -carbolin

14 = 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin

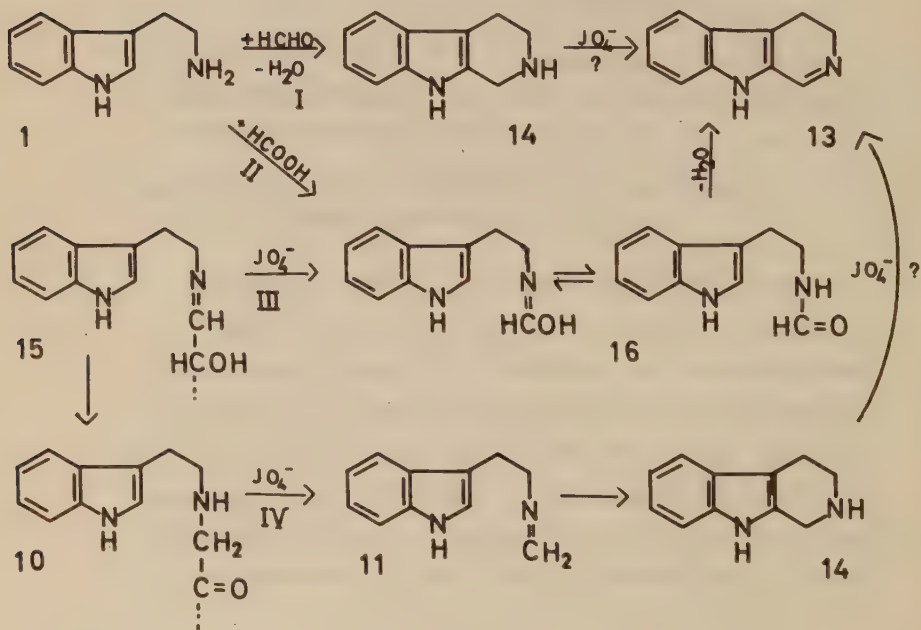
R = Reaktionsgemisch

 = Flecken sichtbar durch Fluoreszenzlöschung bei 254 mp. Die übrigen Flecken sichtbar durch Fluoreszenz bei 350 mp.

Fließmittel III: Aceton+Chloroform+konz.NH₃ 60+20+10
(Bereitung s.S.77)

Eine weitere Möglichkeit zur Bildung von Dihydro- β -carbolin auf anderem Wege als über das Tetrahydro-carbolinderivat von Arabinose (12) besteht theoretisch in einem Ringschluß von Formyl-Tryptamin (16), das entweder aus der Schiffischen Base von Tryptamin und Arabinose (15) durch Perjodat-Oxydation entstehen könnte, oder aus freiem Tryptamin und Ameisensäure, die bei der Perjodat-Oxydation von Zuckern gebildet wird. Beide Reaktionen

sind jedoch sehr unwahrscheinlich. Die Entstehung von Formyl-Tryptamin ist bei Zimmertemperatur nicht zu erwarten; die präparative Darstellung von Formyl-Tryptamin geschieht aus Ameisensäure und Tryptamin bei 180°^{33c)}. Ebenso ist bei den gegebenen Reaktionsbedingungen auch nicht ein Ringschluß des Formyl-Tryptamins zu Dihydro- β -carbolin möglich; es sind dazu hohe Temperaturen(>100°) und stark saure Katalysatoren, wie z. B. POCl₃ erforderlich^{33c)}. Alle genannten Möglichkeiten sind noch einmal im folgenden Schema dargestellt. Es muß hier auch das Vorhandensein von Substanzen in Spuren berücksichtigt werden, da zum dünnschichtchromatographischen Nachweis bekanntlich γ -Mengen ausreichen.



Weg I und IV konnten durch den beschriebenen Versuch mit Tryptamin und Formaldehyd ausgeschlossen werden. Weg II und III sind bei den vorliegenden Reaktionsbedingungen unmöglich.

Zusammenfassung:

Es wurde für die Bräunungsreaktion von Tryptophan mit Zuckern als erster Schritt die Bildung von 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolinderivaten postuliert. Modellumsetzungen von Tryptamin mit Glycerinaldehyd und Dioxyaceton ergaben eine erste Stützung dieser Annahme. Auch Tryptamin und Arabinose kondensieren zu einem Derivat des Tetrahydro- β -carbolins, das zwar nicht in reiner Form isoliert, dessen Existenz jedoch indirekt durch Perjodat-Oxydation zu 3,4-Dihydro- β -carbolin nachgewiesen werden konnte. Nach verschiedenen Autoren²⁰⁻²⁴⁾ entstehen die bei der Maillard-Reaktion auftretenden braunen Produkte durch Umsetzung von Hydroxymethylfurfurol mit Aminosäuren. Zur Klärung der Frage, in welcher Weise Hydroxymethylfurfurol bzw. Furfurol mit Tryptophan oder tryptophanhaltigen Peptiden reagieren können, habe ich Modellreaktionen mit Tryptamin durchgeführt. Dabei erhielt ich 1-Furyl- bzw. 1-Hydroxymethylfuryl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin. Diese erwiesen sich als labil gegenüber Säureeinwirkung; die Pikrate waren jedoch unbegrenzt beständig. Unabhängig von der präparativen Darstellung konnte dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden, daß Furyltetrahydrocarbolin auch unter Bedingungen der nichtenzymatischen Bräunung entsteht.

Aus allen bisher gemachten Untersuchungen über die Maillard-Reaktion geht hervor, daß es sich bei den primär entstehenden Produkten um Substanzen handelt, die Aminogruppen enthalten. Sie entstehen bei Bräunungsreaktionen von Aminosäuren mit Zuckern neben einer unkontrollierten Anzahl von Nebenprodukten, die aus Zersetzungsreaktionen der Zucker und Aminosäuren ohne vorherige Reaktion mit einem anderen Molekül hervorgegangen sein können.

Es ist also wünschenswert, für die analytische Untersuchung der anfallenden Gemische eine Methode zu finden, mit der Amine rasch von anderen Verbindungen und untereinander unterschieden und evtl. voneinander abgetrennt werden können.

Die Herstellung von Derivaten an der Aminogruppe ist dabei naheliegend. An diese ist die Forderung zu stellen, daß sie kristallin sind, um die Reindarstellung zu erleichtern; außerdem ist es bei der chromatographischen Trennung von Vorteil, wenn sich die zu untersuchenden Substanzen durch ihre Farbigkeit voneinander abheben. Wenn möglich sollte also durch die Überführung in kristalline Derivate gleichzeitig eine Farbvertiefung stattfinden.

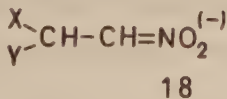
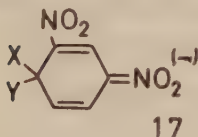
Gut erfüllt diese Forderungen das schon lange bekannte 2,4-Dinitrofluorbenzol, das in der Papier- und Dünnschichtchromatographie zur Trennung von Aminen bereits

allgemeine Anwendung gefunden hat³⁶⁾. Jedoch erscheint es für die nähere Analyse von Nachteil, daß die entstehenden 2,4-Dinitroaniline verhältnismäßig schwer rückspaltbar sind; außerdem ergeben sich durch die Einführung des großen 2,4-Dinitrophenylrestes Unsicherheiten bei der Auswertung der Elementaranalysen der erhaltenen Derivate. Es ist so nämlich möglich, daß kleinere Abweichungen in der Aminkomponente nicht mehr ausreichend zur Geltung kommen.

Ich habe deshalb versucht, das 2,4-Dinitrofluorbenzol durch Verbindung des Typs:



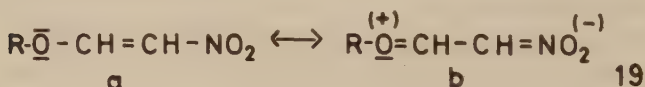
zu ersetzen. Für derartige Verbindungen ist gegenüber Halogendinitrobenzolen eine erhöhte Reaktivität zu erwarten. Der Übergangszustand der nucleophilen Substitution (17) ist hier nämlich gegenüber der Ausgangssubstanz energetisch nicht so benachteiligt, wie das bei den Halogendinitrobenzolen der Fall ist, bei denen durch den Angriff des nucleophilen Reagenses das aromatische System aufgehoben wird (18):



36) J.M.Hais u. K.Macek, Handbuch der Papierchromatographie Bd. I, 396 (1958), VEB Gustav Fischer Verlag, Jena

Einfache Nitroolefine sind sehr instabil, da sie sehr stark zur Polymerisation neigen. Von den 1-Halogen-2-nitroäthylenen wurde bisher nur die Chlorverbindung hergestellt³⁷⁾; genaue Angaben über ihre Beständigkeit fehlen. Es dürfte jedoch zu erwarten sein, daß es ebenfalls leicht polymerisiert.

Als geeignet für die Umsetzung mit Aminen bietet sich das 1-Nitro-2-alkoxyäthylen (19) an:

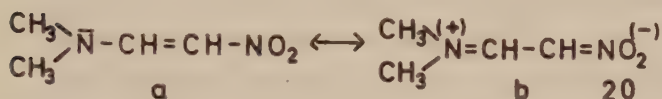


Dies sollte verglichen mit den Halogenennitroäthylenen etwas weniger reaktionsfähig sein, da durch den Beitrag der Oxoniumgrenzstruktur 19b die Bereitschaft für einen nucleophilen Angriff am C-Atom 2 herabgesetzt wird. Diese Mesomeriemöglichkeit läßt aber auch erwarten, daß die Substanz besser zu handhaben und haltbarer ist als die Halogenennitroolefine. Leider ist bisher noch keine Synthese eines einfachen 1-Nitro-2-alkoxyäthylens gelungen. Umsetzungen von Orthoameisensäureestern mit Nitroalkanen verlaufen unter Verharzung. Eine andere Möglichkeit läge in der Methylierung von Nitroacetaldehyd. Dem stehen aber verschiedene Schwierigkeiten im Wege, da einerseits die Ausgangssubstanz Nitroacetaldehyd

37) J.Ville, Mem.Poudres 41A, Nr.3295, 1-90 (1959)
(C.A. 57, 16371c (1962))

schwer zugänglich ist und andererseits mit großer Wahrscheinlichkeit die Konkurrenzreaktion der Methylierung an der Nitrogruppe zu O-Methyl-aci-nitro-Verbindungen in Kauf genommen werden muß.

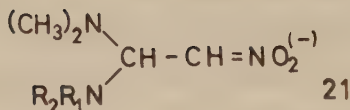
Bekannt ist dagegen das 1-Nitro-2-dimethylamino-äthylen (20):



Es kann auf einfache Weise aus N,N-Dimethylformamid-dimethylacetal und Nitromethan synthetisiert werden^{38,39}). Der Anteil der polaren Grenzform 17b macht verständlich, daß es sich um eine kristalline Substanz vom Schmelzpunkt 104° handelt, die aus Wasser nicht mit Methylenchlorid ausgeschüttelt werden kann. Die starke Mesomeriestabilisierung erklärt außerdem die gute Haltbarkeit der Substanz, läßt aber gleichzeitig eine weitere Herabsetzung der Reaktivität am zur Nitrogruppe β-ständigen C-Atom gegenüber den Halogennitroäthylenen und den Nitroalkoxyäthylenen erwarten. Die Umsetzbarkeit mit Aminen erscheint außerdem dadurch in Zweifel gezogen, daß für die Reaktion folgender Übergangszustand anzunehmen ist:

38) H.Meerwein, W.Florian, N.Schön, G.Stopp, Liebigs Ann.Chem. 641, 27 (1961)

39) H.Bredereck, F.Effenberger, G.Simchen, Angew.Chem. 73, 493 (1961)

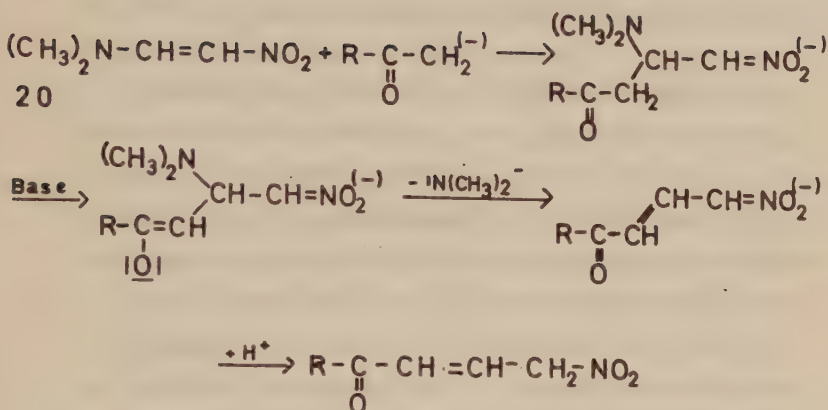


Der Übergangszustand läßt erkennen, daß bei vergleichbarer Basizität der beiden Aminreste die Austrittstendenz gleich sein wird. Deshalb sollte sich stets ein Gleichgewicht zwischen der Rückreaktion zu Nitrodimethylaminoäthylen und der erwähnten Substitutionsreaktion einstellen, während bei Austritt von Halogen oder einer Alkoxygruppe die Reaktion in eindeutiger Weise verlaufen würde.

Ein ähnliches Gleichgewicht war auch bei Reaktionen des 1-Nitro-2-dimethylaminoäthylens mit CH-aciden Verbindungen zu erwarten, die kürzlich von Th. Severin und B. Brück durchgeführt wurden⁴⁰⁾. Es gelang dabei bisher nur die Umsetzung mit solchen Verbindungen, die an der reagierenden CH-Gruppe mindestens noch ein weiteres H-Atom trugen. Daraus wurde geschlossen, daß bei diesen Umsetzungen die intermediäre Ablösung eines zweiten H⁺-Ions erforderlich ist und folgender Mechanismus zur Diskussion gestellt⁴¹⁾:

40) Th. Severin u. B. Brück, Chem. Ber. 98, 3847 (1965)

41) B. Brück, geplante Dissertation, Marburg



Nach diesen Beobachtungen an CH-aciden Substanzen erscheint es fraglich, ob die Reaktion mit sekundären Aminen in der gewünschten Weise zu einer Substitution der Dimethylaminogruppe führt, während bei primären Aminen die Analogie zu den von Th. Severin und B. Brück umgesetzten Verbindungen mit CH-acider Methyl- oder Methylengruppe eher gegeben ist.

Andererseits ist für den ersten Schritt der Reaktion, dem Angriff des Reagenses am C-Atom 2 von 1-Nitro-2-dimethylaminoäthylen, der zu dem angenommenen Übergangszustand führt, eine erhöhte Reaktionsbereitschaft dann zu erwarten, wenn das Agens möglichst nucleophil ist, so daß man hier die Amine näherungsweise nach der Stärke ihrer Basizität zu ordnen hätte. Die Reaktionsfähigkeit sollte also etwa in der Reihenfolge: primäre aromatische

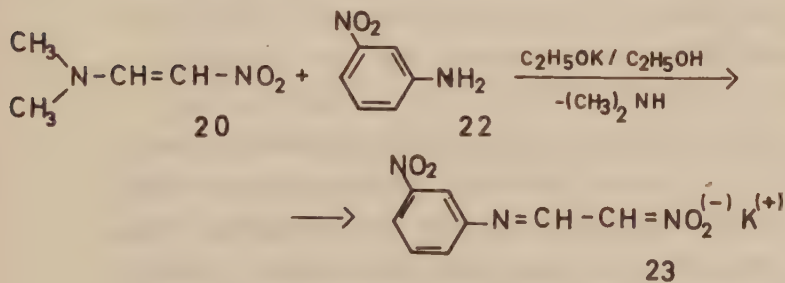
Amine, sekundäre aromatische Amine, primäre aliphatische Amine, sekundäre aliphatische Amine zunehmen.

Bei meinen experimentellen Untersuchungen setzte ich zunächst Morpholin, also ein sekundäres aliphatisches Amin ein und erhitzte es 1 Stunde zusammen mit 1-Nitro-2-dimethylaminoäthylen (20) in Alkohol. Beim Eindampfen hinterblieb ein kristalliner Rückstand, der sich auf Grund der Elementaranalyse als 1-Nitro-2-morpholinoäthylen erwies. Die hohe Ausbeute von fast 90 % überraschte im Hinblick auf die oben besprochene Gleichgewichtstheorie. Für den vollständigen Ablauf der Substitutionsreaktion dürften allerdings in überwiegendem Maße die Versuchsbedingungen verantwortlich sein; denn es wurde einerseits Morpholin im Überschuß eingesetzt und zum anderen das leicht flüchtige Dimethylamin beim Verdampfen aus dem Gleichgewicht entfernt.

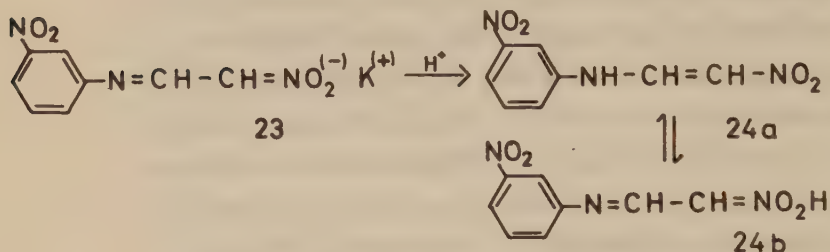
Versuche mit Methylanilin, also einem sekundären aromatischen Amin blieben erfolglos, selbst bei Zusatz von Kaliumalkoholat. Hier reicht also die Basizität des Stickstoffatoms infolge der Einbeziehung des freien Elektronenpaares in die Mesomerie des aromatischen Systems nicht aus, um einen nucleophilen Angriff am C-Atom 2 von Nitrodimethylaminoäthylen (20) zu ermöglichen.

Ebenso trat keine Reaktion ein beim Erhitzen von primären aromatischen Aminen mit 20 in Alkohol. Es gelang die Umsetzung jedoch bei Gegenwart von 1 Mol Kaliumalkoholat. Zum Verständnis dieses Katalysator-

einflusses können zwei verschiedene Wirkungsmechanismen der Base in Betracht gezogen werden. Einmal besteht die Möglichkeit, daß nicht die freien Amine als nucleophile Partner auftreten, sondern die basischeren Aminat-Anionen. Zum anderen kann die Gleichgewichtslage der Reaktion dadurch zugunsten des Substitutionsproduktes verschoben werden, daß die anwesende Base im Übergangszustand die Ablösung des zweiten H^+ -Ions vom Amin-Stickstoff bewirkt im Sinne des oben formulierten Mechanismus für CH-acide Verbindungen. Die Umsetzung mit m-Nitranilin konnte in Anlehnung an die Versuche von Th. Severin und B. Brück durchgeführt werden, und zwar wurden 1-Nitro-2-dimethyl-aminoäthylen (20), m-Nitranilin (22) und Kaliumalkoholat im Molverhältnis 1:1:1 in einer äthanolischen Lösung 5 Minuten gekocht. Ein farbloser Niederschlag, über dessen Natur zunächst nichts ausgesagt werden konnte, wurde abfiltriert und aus der alkoholischen Lösung sodann mit Äther das Kaliumsalz 23 ausgefällt:

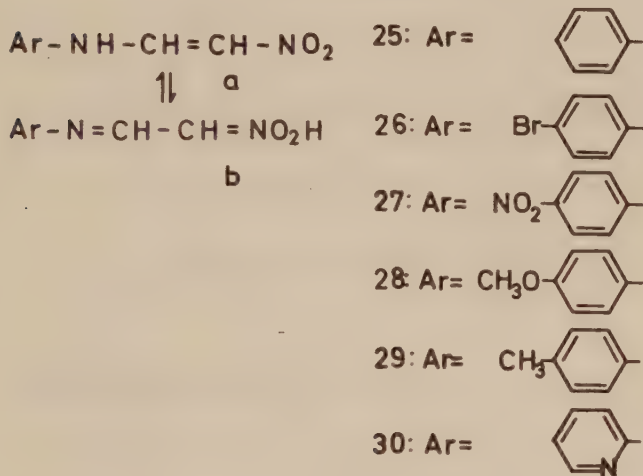


Die angenommene Struktur für das Kaliumsalz ergibt sich aus der Tatsache, daß aus ihm mit KHCO_3 1-Nitro-2-m-nitranilinoäthylen (24) freigemacht werden konnte:



Es handelt sich hierbei um eine kristalline, gut haltbare Substanz vom Schmelzpunkt 197° . Ihre Struktur folgt aus der Elementaranalyse. Es ist zu berücksichtigen, daß für die Verbindung zwei tautomere Formen denkbar sind, wie sie in den Formeln 24a und b beschrieben sind. Welche der beiden Formen vorliegt oder, falls es sich um eine Mischung handelt, in welchen Anteilen, ist nicht sicher gestellt. Das IR-Spektrum zeigt zwar eine ausgeprägte Bande bei 1650 cm^{-1} , was auf eine CN-Doppelbindung schließen läßt (24b); es ist jedoch auch möglich, daß diese Bande von der C=C-Doppelbindung in der tautomeren Form 24a herrührt, denn C=C-Doppelbindungsbanden treten bei Konjugation zu einem freien Elektronenpaar, also z.B. in Enaminen und Vinyläthern verstärkt auf. Zudem weiß man nicht, wie sich die weitere Konjugation zu einer Nitrogruppe auswirkt.

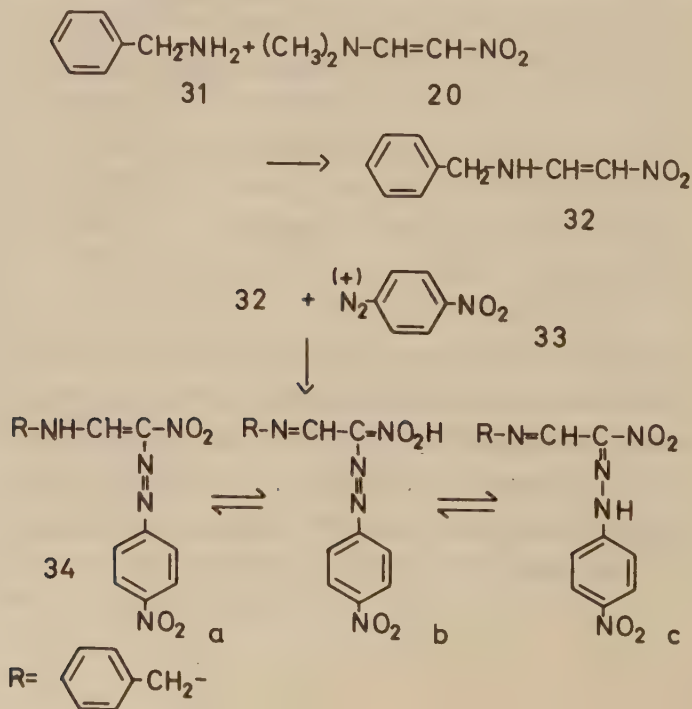
Die Reaktion von 1-Nitro-2-dimethylaminoäthylen mit primären aromatischen Aminen ist allgemein durchführbar, was durch die Anwendung einer Reihe von substituierten Anilinen, die sämtlich zu Nitroanilinoäthylenen führten, nachgewiesen ist. Es wurden außer m-Nitranilin noch eingesetzt: Anilin, p-Bromanilin, p-Nitranilin, p-Methoxyanilin, p-Toluidin, α -Aminopyridin.



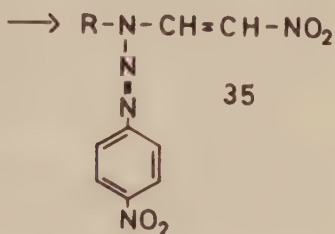
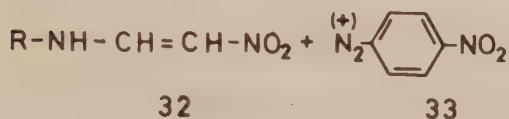
Die Ausbeuten an Kaliumsalz und freier Verbindung lagen durchweg bei 60-70 % bzw. 40-50 %. Lediglich beim unsubstituierten Anilin lagen sie wesentlich darunter. 1-Nitro-2-(pyridyl-2-)aminoäthylen konnte nur mit erheblichen Verlusten aus Acetonitril umkristallisiert werden.

Das diesen Verbindungen analoge Reaktionsprodukt 32 aus 1-Nitro-2-dimethylaminoäthylen (20) und Benzylamin (31), also einem primären aliphatischen Amin, konnte ich nicht in reiner Form isolieren; es gelang jedoch der Nachweis seiner Entstehung durch die Überführung in das Kupplungsprodukt mit p-Nitrophenyldiazoniumsalz (33). Es stellte sich dabei heraus, daß Benzylamin mit 20 auch ohne Basenkatalyse reagiert und zwar durch Kochen der Komponenten in Tetrahydrofuran.

Zur Herstellung des Kupplungsproduktes wurde das nach Abdampfen des Lösungsmittels zurückgebliebene gelbe Öl in Wasser gelöst und mit Natrium-p-nitrophenyldiazotat in Eisessig behandelt. Es entstand in befriedigender Ausbeute das kristallisierbare Kupplungsprodukt 34:



Durch die Elementaranalyse ist die Struktur nicht eindeutig bestimmt. Es könnte nicht nur das die Nitrogruppe tragende C-Atom in Reaktion getreten sein, sondern es ist auch in Erwägung zu ziehen, daß sich das Triazen 35 gebildet haben könnte:

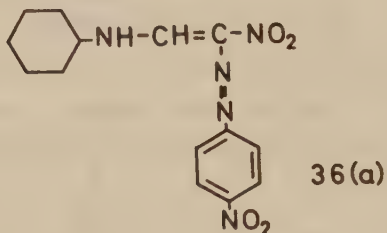


Diese Azoaminoverbindung müßte sich mit Säuren spalten lassen. Nach Behandlung mit Salzsäure in Methylenchlorid wurde jedoch die Ausgangsverbindung in unveränderter Form erhalten.

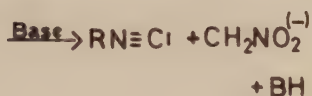
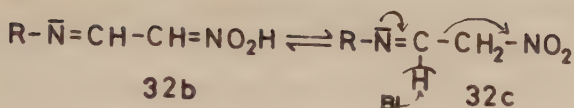
Im Falle des C-Kupplungsproduktes gibt es drei verschiedene mögliche tautomere Formen (34a-c). Welche von ihnen vorliegt, wurde nicht untersucht. Normalerweise liegen Kupplungsprodukte von CH-aciden Verbindungen mit Diazoniumsalzen in der Hydrazonform (34c) vor. Auf Grund der stark acidifizierenden Wirkung der Nitrogruppe hat

jedoch auch die Acinitroform 34b mit einer Wasserstoffbrücke zu einem Stickstoffatom große Wahrscheinlichkeit. Da die Substanz einen scharfen Schmelzpunkt bei 178° zeigt, ist anzunehmen, daß nur eine tautomere Form und nicht eine Mischung vorliegt.

Mit Cyclohexylamin gelangte ich zu der entsprechenden Verbindung 36:

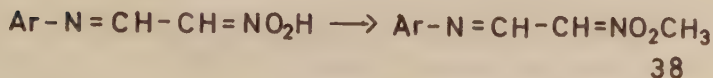
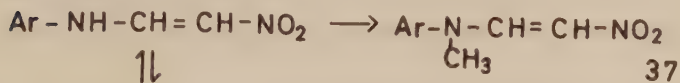


Wenn die Umsetzung von Benzylamin mit 1-Nitro-2-dimethylaminoäthylen in Gegenwart von Alkoholat durchgeführt wurde, unter den gleichen Bedingungen also, bei denen die Umsetzung mit aromatischen Aminen in guten Ausbeuten gelang, so konnte das Kupplungsprodukt mit p-Nitrophenyldiazotat nur dann gewonnen werden, wenn die Kupplung rasch vorgenommen wurde. Das einfache Nitrovinyllderivat zersetzte sich noch im Reaktionsgemisch und zwar offensichtlich unter Bildung von Isonitrilen, worauf das Auftreten des typischen Isonitrilgeruchs aufmerksam machte. Diese Beobachtung läßt sich durch die Annahme des folgenden Zerfallsmechanismus erklären:

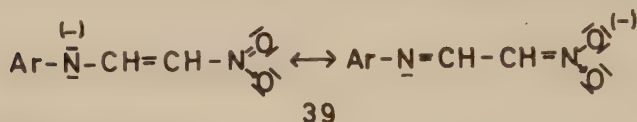


Der Aminstickstoff wird sein freies Elektronenpaar umso leichter zur Verfügung stellen, je basischer das Amin RNH_2 ist. Bei den aromatischen Aminen wird das freie Elektronenpaar in die Mesomerie des Benzolkerns einbezogen; die Basizität wird dadurch erheblich abgeschwächt. Damit erklärt sich die größere Stabilität der Nitro-anilinoäthylene gegenüber den aliphatischen Nitroamino-äthylenen.

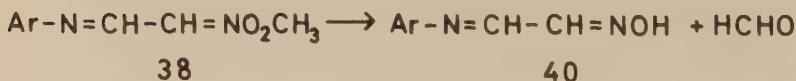
Es wurden Versuche unternommen, einzelne der oben beschriebenen 1-Nitro-2-anilinoäthylene (25-30) zu methylieren. Dies sollte bei beiden tautomeren Formen a und b möglich sein und zu einem der beiden folgenden Methylierungsprodukte führen:



Bei Methylierungen, die in alkalischem Milieu vorgenommen werden, kann ein Gemisch der beiden Methylierungsprodukte entstehen; denn hier liegt das mesomere Anion 39 vor:



Von den Methylierungsprodukten an der Nitrogruppe, den sog. aci-Nitroestern, ist bekannt, daß sie durch Erwärmen in organischen Lösungsmitteln unter Abspaltung von Formaldehyd in Oxime überführt werden können⁴²⁾. Damit wäre hier eine Möglichkeit gegeben, zu Derivaten des Glyoxals (40) zu gelangen:



Trotz zahlreicher Versuche mit verschiedenen Methylierungsmitteln ist es mir jedoch nicht gelungen, eins der beschriebenen Methylierungsprodukte in reiner Form zu gewinnen.

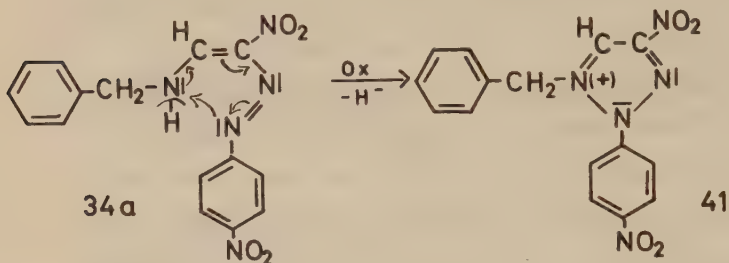
1-Nitro-2-p-methoxyanilinoäthylen (28) hatte nach 1/2 Stunde mit Diazomethan in Tetrahydrofuran bei Raumtemperatur noch nicht reagiert. Ebenso reagierte es nicht

42) E.H.Rodd, Chemistry of Carbon Compounds Vol I 361 (1951) Elsevier Publishing Company; Amsterdam, Houston, London, New York.

beim Stehenlassen mit Triäthylxoniumfluorborat in Methylenchlorid (3 Stunden, Raumtemperatur). Hingegen entstand bei der Reaktion von Triäthylxoniumfluorborat mit dem Kaliumsalz von 28, das in Methylenchlorid suspendiert worden war, ein dunkelbraunes Öl, das bei der Chromatographie auf der Aluminiumoxydsäule drei deutlich getrennte Zonen ergab. Aus diesen Fraktionen konnten jedoch keine Kristalle erhalten werden. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte ich bei der Umsetzung von 28 mit Methyljodid in Äthanol (45 Minuten, 40°). Die Methylierung des Kaliumsalzes von 28 mit Dimethylsulfat ergab nur eine tiefschwarze Schmiere. Schließlich wurde noch der Versuch unternommen, über die Silbersalze der Nitroanilinoäthylene mit Methyljodid zu den Methylverbindungen zu gelangen. Die in Acetonitril suspendierten Silbersalze von 1-Nitro-2-p-methoxyanilinoäthylen (28), 1-Nitro-2-m-nitranilinöäthylen (24) und 1-Nitro-2-p-nitranilinoäthylen (27) wurden mit Methyljodid 24 Stunden gerührt. In allen drei Fällen ließen sich auf der Aluminiumoxydsäule je drei deutlich voneinander getrennte gelbe Zonen auffangen. Sie ergaben nach dem Eindampfen des Lösungsmittels gelbe Öle, die jedoch nicht zur Kristallisation gebracht werden konnten.

Im Kupplungsprodukt 34 liegt eine Substanz vor, die mit einem geeigneten Oxydationsmittel unter Abspal-

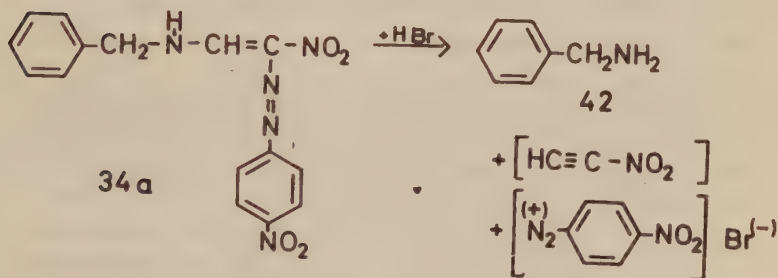
tung eines Hydridions einen innermolekularen Ring-
schluß zu einem Triazoliumsystem eingehen könnte:



Die Umsetzung mit Tritylperchlorat in Methylenchlorid ergab nach kurzem Stehenlassen eine farblose Substanz, die nadelförmig aus Methylenchlorid auskristallisierte; sie war wasser- und alkohollöslich. Eine Elementaranalyse wurde nicht vorgenommen, da die Substanz zu heftig verbrannte, wahrscheinlich infolge der gleichzeitigen Anwesenheit von Nitro- neben Azogruppen und einem Perchloratanion.

Bei der Reaktion von 34 mit Brom in Chloroform bei Raumtemperatur schied sich ebenfalls schon nach kurzer Zeit (10 Minuten) eine gelbgefärbte Substanz ab; nach weiterem 1 stündigem Stehenlassen kristallisierte eine zweite Substanz in farblosen Nadeln aus. Die letztere konnte durch Elementaranalyse und Schmelzpunkt als Benzylammoniumbromid identifiziert werden. Die zuerst ausgefallene Verbindung ließ sich weder aus Wasser noch

aus organischen Lösungsmitteln umkristallisieren. Sie wurde deshalb zur Reinigung nur mit Methylenchlorid gewaschen. Die Elementaranalyse ergab eine Zusammensetzung von: C 30,98 % H 2,56 % N 11,92 % Br 41,24 %. Daraus ergibt sich rechnerisch keine einheitliche Verbindung einfacher Struktur, so daß über die Konstitution der erhaltenen Verbindung keine eindeutige Aussage gemacht werden kann. Das Auftreten von Benzylammoniumbromid als Reaktionsprodukt von 34 mit Brom ist schwierig zu erklären. Ein möglicher Reaktionsmechanismus, für den jedoch keine weitere experimentelle Begründung gegeben werden kann, ist dem Formelschema zu entnehmen (34a $\rightarrow$ 42):



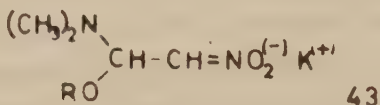
Die Entstehung von HBr ist auf dem Wege einer Substitutionsreaktion möglich.

Bei allen behandelten Umsetzungen von 1-Nitro-2-dimethylaminoäthylen (20) mit Aminen, bei denen 1 Mol Kaliumalkoholat zugesetzt wurde, fiel stets als Nebenprodukt eine feste, farblose Substanz an, die sich an

der Luft rasch unter Rotfärbung zersetzte.

Dieselbe Substanz erhält man, wenn man 20 nur mit Alkoholat erwärmt, was durch Vergleich der IR-Spektren gezeigt werden konnte.

Auch bei den Umsetzungen, die B.Brück mit 20 und CH-aciden Verbindungen durchgeführt hatte, ist diese Verbindung angefallen; es wurde die Struktur 43 in Erwägung gezogen⁴⁰⁾:

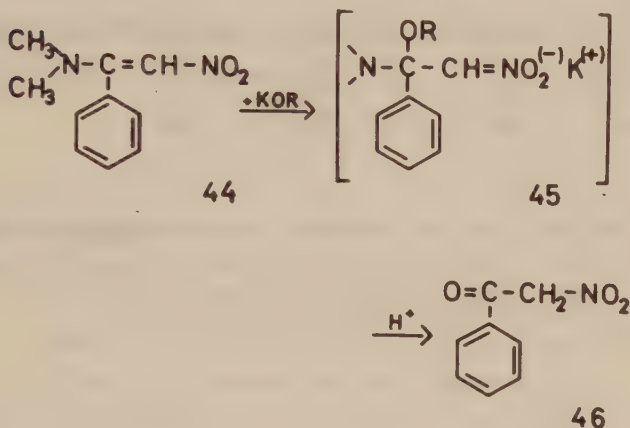


Die ermittelten Stickstoffgehalte stimmten hiermit jedoch schlecht überein.

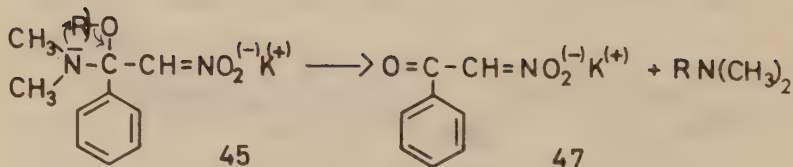
Das erhaltene Kaliumsalz ist sehr leicht wasserlöslich und zersetzt sich ohne zu schmelzen oberhalb 200°. Da es selbst schon sehr unbeständig ist, wurden keine weiteren Umsetzungen mit ihm unternommen.

Zur Strukturaufklärung wurde stattdessen das analoge Produkt aus 1-Nitro-2-phenyl-2-dimethylaminoäthylen (44) und Alkoholat herangezogen. Der Phenylring wirkt hier als stabilisierender Faktor, und so war es möglich, aus dem salzartigen Reaktionsprodukt von 44 und Alkoholat mit Essigsäure eine neutrale kristalline Substanz zu gewinnen, die sich nach Elementaranalyse und IR-Spektrum als ω-Nitroacetophenon (46) auswies.

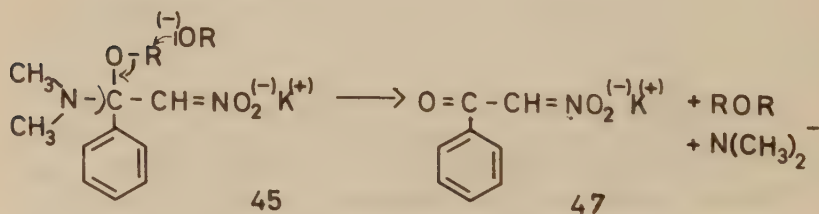
Die Bildung des ω -Nitroacetophenons wäre aus einem Addukt analog 43 durch Hydrolyse zu erklären:



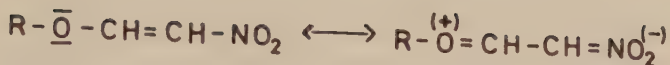
Überraschenderweise stellte sich aber heraus, daß das Kaliumsalz des Nitroacetophenons (47) das gleiche IR-Spektrum hat wie das angenommene Alkoholat-Addukt. Da die Menge des Reaktionsproduktes dagegen spricht, daß es durch Hydrolyse von in Spuren vorhandenem Wasser entstanden ist, muß angenommen werden, daß eine O-Alkylspaltung stattgefunden hat. Dabei kann der Alkylrest auf die benachbarte Dimethylaminogruppe kationisch übertragen worden sein, gemäß:



oder aber es führt die Umsetzung des Zwischenproduktes mit weiteren Alkoholat-Anionen zur Ätherbildung; gleichzeitig damit tritt die Dimethylaminogruppe aus:



Schließlich wäre durch die elektronenliefernde Wirkung der aci-Nitrogruppe zuerst ein Austritt der Dimethylaminogruppe denkbar, so daß der entstandene Nitrovinyl-äther seine Alkylgruppe auf weitere Alkoholatanionen übertragen kann. Die Bereitschaft zu dieser Tendenz geht aus der Oxoniumgrenzstruktur hervor:



Allerdings wurde experimentell zwischen diesen Möglichkeiten nicht unterschieden.

Zusammenfassung:

1-Nitro-2-dimethylaminoäthylen konnte mit verschiedenen Aminen umgesetzt werden, wobei die Dimethylamino-Gruppe durch die eingesetzte Aminkomponente substituiert wurde. Dies gelang in glatter Reaktion ohne Katalysatorzusatz bei sekundären aliphatischen Aminen. Primäre aliphatische Amine setzten sich ebenfalls ohne Katalysatorzusatz um, das Reaktionsprodukt zersetzte sich jedoch rasch in der Lösung. Seine Entstehung konnte indirekt nachgewiesen werden durch Herstellung der Kupplungsprodukte mit p-Nitrophenyldiazoniumsalz. Die besser mesomeriestabilisierten Nitroanilinoäthylene konnten in guten Ausbeuten rein erhalten werden. Für die zu ihnen führende Umsetzung von 1-Nitro-2-dimethylaminoäthylen und Anilinen war jedoch der Zusatz von 1 Mol Kalium erforderlich.

Trotz zahlreicher Versuche mit verschiedenen Methylierungsmitteln ist es nicht gelungen, die aci-Nitromethylester der Nitroanilinoäthylene zu erhalten.

Bemühungen, das Kupplungsprodukt 1-Nitro-1-p-nitrophenylazo-2-benzylaminoäthylen mit Oxydationsmitteln zu Triazoliumsystemen zu oxydieren, blieben ebenfalls erfolglos. Als Oxydationsmittel wurden dabei Triphenylmethylperchlorat und Brom in chloroformischer Lösung angewandt.

Ein bei allen Umsetzungen von 1-Nitro-2-dimethylaminoäthylen in Kaliumalkoholat anfallendes Nebenprodukt konnte mit großer Wahrscheinlichkeit als das Kaliumsalz des Nitroacetaldehyds aufgeklärt werden. Als Modellschubstanz diente das 1-Nitro-2-phenyl-2-dimethylaminoäthylen. Das beim Erwärmen dieser Substanz mit Kaliumalkoholat entstehende salzartige Produkt zeigte das gleiche IR-Spektrum wie das Kaliumsalz des ω -Nitroacetophenons.

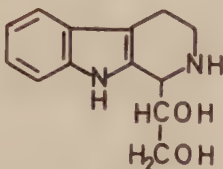
Experimenteller Teil

Inhaltsverzeichnis:

	Seite
1) 1-(1,2-Dihydroxy-äthyl)-1,2,3,4-tetrahydro- β-carbolin	67
2) 1,1-Dihydroxymethyl-1,2,3,4-tetrahydro- β-carbolin	68
3) 1-(1,2-Dihydroxyäthyl)-1,2,3,4-tetrahydro- β-carbolin-carbonsäure-(3)	69
4) N-Furfuryliden-Tryptamin	69
5) N-(5-Hydroxymethyl-furfuryliden)-Tryptamin	70
6) 1-Furyl-(2)-1,2,3,4-tetrahydro-β-carbolin	71
7) 1-[5-Hydroxymethyl-furyl-(2)]-1,2,3,4-tetra- hydro-β-carbolin	72
8) N-(1)-Acetyl-N-(10)-furfuryliden-Tryptamin	73
9) Diacetyl-1-furyl-1,2,3,4-tetrahydro- β-carbolin	74
10) Hydrochlorid von 6)	74
11) Pikrat von 6)	75
12) Dünnschichtchromatographische Untersuchung der Reaktionsprodukte von N-Furfuryliden- Tryptamin mit 1 Mol Essigsäure bei 150°.	75
13) 3,4-Dihydro-β-carbolin aus 1-(1,2-Dihydroxy- äthyl)-1,2,3,4-tetrahydro-β-carbolin	76
14) Dünnschichtchromatographische Untersuchung der Reaktionsprodukte von Tryptamin-acetat mit Arabinose bei 160°.	77

	Seite
15) Na-perjodat Oxydation des Reaktionsproduktes von Tryptamin mit Arabinose. Dünnschichtchromatographischer Nachweis von 3,4-Dihydro- β -carbolin.	78
16) Umsetzung von Tryptamin-acetat mit Formaldehyd bei Zimmertemperatur.	79
17) 1-Nitro-2-morpholino-äthylen	79
18) 1-Nitro-2-m-nitranilino-äthylen und: 1-Nitro-2-anilino-äthylen 1-Nitro-2-p-bromanilino-äthylen 1-Nitro-2-p-nitranilino-äthylen 1-Nitro-2-p-methoxyanilino-äthylen 1-Nitro-2-p-toluidino-äthylen 1-Nitro-2-(pyridyl-2-amino)-äthylen	80-82
19) 1-Nitro-1-p-nitrophenylazo-2-benzylamino-äthylen	83
20) 1-Nitro-1-p-nitrophenylazo-2-cyclohexylamino-äthylen	83
21) Umsetzung von 1-Nitro-2-phenyl-2-dimethylamino-äthylen mit Kaliummethylat	84
22) ω -Nitroacetophenon aus 1-Nitro-2-phenyl-2-dimethylamino-äthylen	85

1) 1-(1,2-Dihydroxy-äthyl)-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline



0,59 g Tryptamin-Hydrochlorid werden in 2 ml Wasser unter Zusatz von 1,2 ml 2n HCl gelöst, warm filtriert und 0,285 g Glycerinaldehyd in 3 ml Wasser hinzugegeben. Nach zweistündigem Erhitzen im Wasserbad wird die Lösung zunächst durch Extraktion mit Methylenchlorid gereinigt. Beim anschließenden Alkalisieren mit 10%iger NaOH fällt das Kondensationsprodukt als farbloser Niederschlag aus. Er wird abgesaugt und aus Isopropanol umkristallisiert.

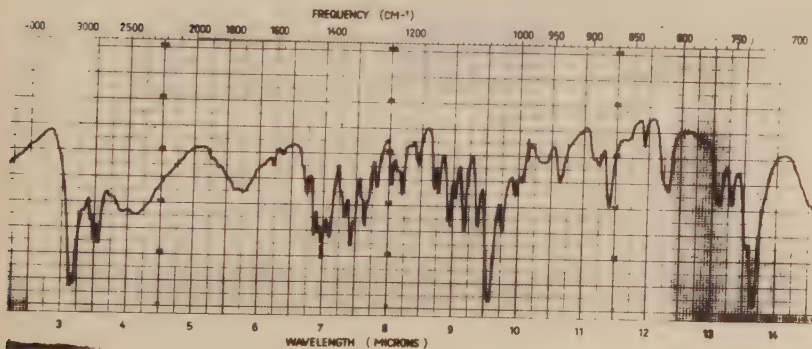
Schmp. 215-17° Rohausbeute: 0,3 g (38 % d.Th.)

$C_{13}H_{16}N_2O_2$ (232,3)

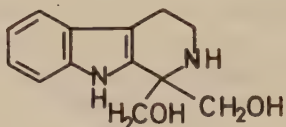
Ber.: 67,22 % C 6,94 % H 12,06 % N

Gef.: 67,33 % C 7,05 % H 11,65 % N

IR-Spektrum:



2) 1,1-Bis-hydroxymethyl-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline



Die Kondensation von Tryptamin und Dihydroxyaceton wird in gleicher Weise durchgeführt wie die mit Glycerinaldehyd. Man kristallisiert erst aus Essigester, dann aus Isopropanol um.

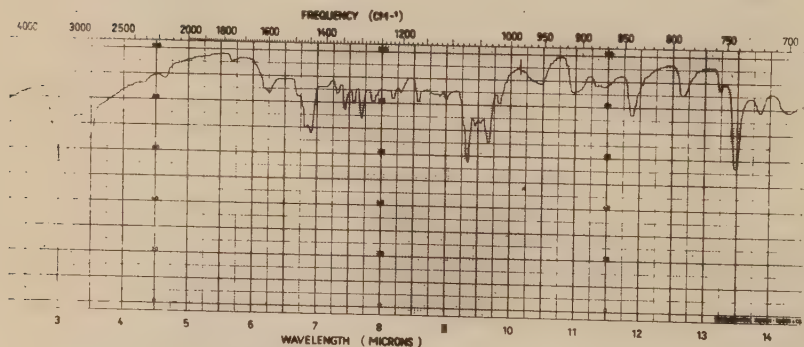
Schmp. 220-25° Rohausbeute: 0,4 g (51 % d.Th.)

$C_{13}H_{16}N_2O_2$ (232,3)

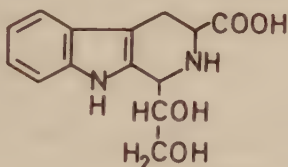
Ber.: 67,22 % C 6,94 % H 12,06 % N

Gef.: 67,05 % C 7,01 % H 12,10 % N

IR-Spektrum:



3) 1-(1,2-Dihydroxyäthyl)-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin-carbonsäure-(3)



3,0 g Tryptophan werden in 100 ml Wasser und 14 ml 2n HCl gelöst und mit einer Lösung von 1,4 g Glycerinaldehyd in 20 ml Wasser 5 Stunden auf 70-80° erhitzt. Danach engt man im Vakuum auf 50 ml ein und stellt mit verdünntem Ammoniak auf etwa pH 6 ein. Dabei bildet sich ein Niederschlag, der abfiltriert und mehrfach aus Pyridin umkristallisiert wird.

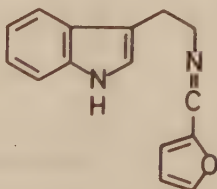
Schmp. 260-70° (Zersetzung) Ausb.: 35 % d.Th.

$C_{14}H_{16}N_2O_4$ (276,3)

Ber.: 60,86 % C 5,69 % H 10,14 % N

Gef.: 60,38 % C 5,72 % H 10,16 % N

4) N-Furfuryliden-Tryptamin



1,0 g Tryptamin und 3 ml Furfurol werden in 150 ml Benzol 2 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten scheiden sich bereits Kristalle ab. Man engt im Vakuum

auf 20 ml ein, saugt ab und kristallisiert das erhaltene Rohprodukt aus Methylenchlorid um.

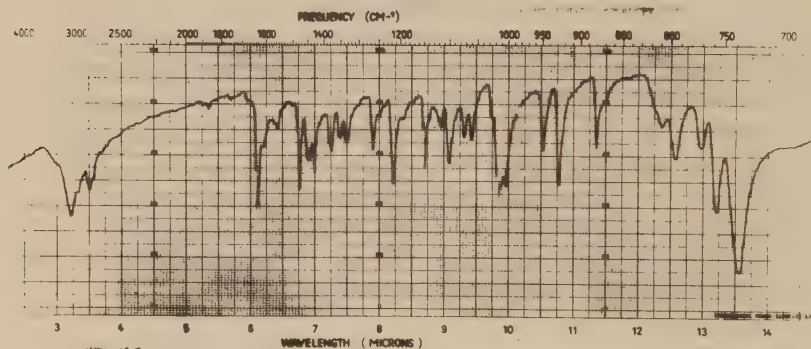
Schmp. 134° Ausbeute: 75 % d.Th.

$C_{15}H_{14}N_2O$ (238,3)

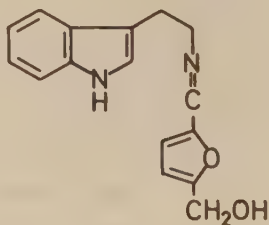
Ber.: 75,61 % C 5,92 % H 11,76 % N

Gef.: 75,52 % C 5,88 % H 11,79 % N

IR-Spektrum:



5) N-(5-Hydroxymethyl-furfuryliden)-Tryptamin



Die Darstellung erfolgt analog der vorstehend beschriebenen Verbindung.

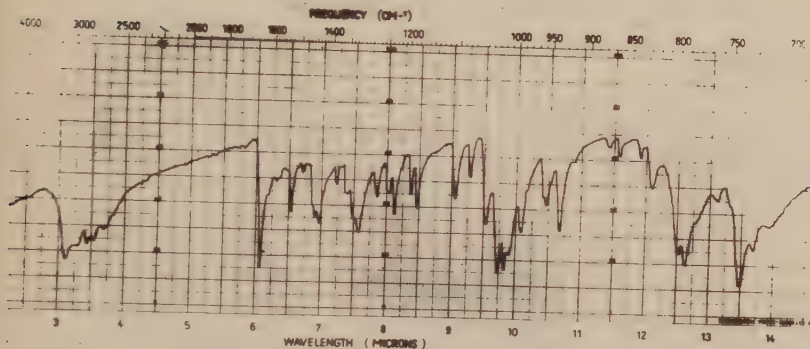
Schmp. $150-51^{\circ}$ (aus Benzol) Ausbeute: 68 % d.Th.

$C_{16}H_{16}N_2O_2$ (268,3)

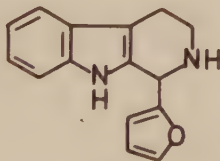
Ber.: 71,49 % C 6,01 % H 10,44 % N

Gef.: 71,62 % C 5,97 % H 10,72 % N

IR-Spektrum:



6) 1-Furyl-(2)-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin



0,5 g N-Furfuryliden-Tryptamin werden mit wenig Wasser angeschlemmt und unter Eiskühlung und kräftigem Rühren mit gekühlter konzentrierter Salzsäure versetzt. Das sich zunächst bildende ölige Produkt erstarrt schnell. Es wird rasch abfiltriert, sogleich in Wasser gelöst und die wäßrige Lösung mit 10%iger Natronlauge alkali-
siert. Der entstandene farblose Niederschlag wird

abfiltriert, mit Wasser gewaschen, im Vakuum bei 20°
über P₂O₅ getrocknet und möglichst bald erst aus Benzol
dann aus Xylol umkristallisiert.

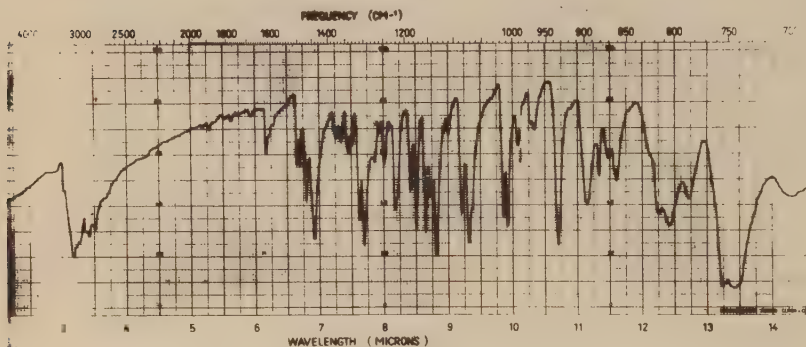
Schmp. 140° Ausbeute: 40 % d.Th.

C₁₅H₁₄N₂O (238,3)

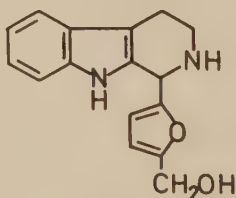
Ber.: 75,61 % C 5,92 % H 11,76 % N

Gef.: 75,85 % C 6,61 % H 11,34 % N

IR-Spektrum:



7) 1-[5-Hydroxymethyl-furyl-(2)]-1,2,3,4-tetrahydro-β-
carbolin



Die Darstellung erfolgt wie die der vorstehend be-
schriebenen Verbindung.

Das Rohprodukt wird erst aus Chloroform, dann aus Essigester umkristallisiert.

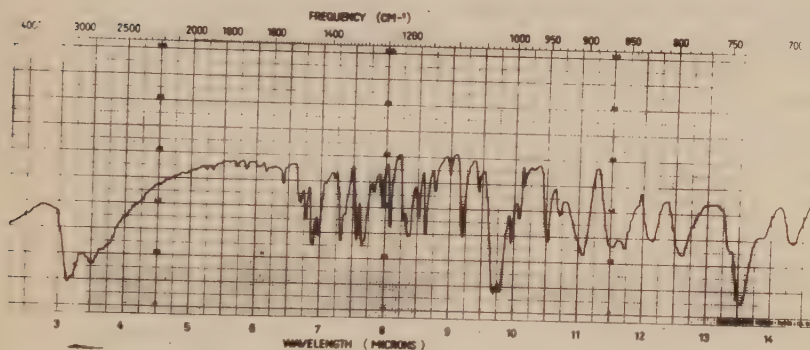
Schmp. 157° Ausbeute: 60 % d.Th.

$C_{16}H_{16}N_2O_2$ (268,3)

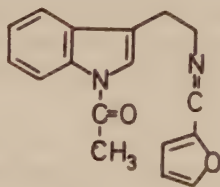
Ber.: 71,49 % C 6,01 % H 10,44 % N

Gef.: 71,48 % C 6,25 % H 9,86 % N

IR-Spektrum:



8) N-(1)-Acetyl-N-(10)-furfuryliden-Tryptamin



0,1 g N-Furfuryliden-Tryptamin wird in wenig Benzol gelöst und mit Essigsäureanhydrid/Na-acetat in der Kälte acetyliert.

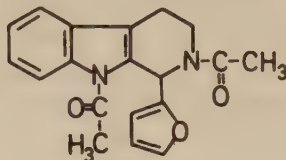
Schmp. 200°, aus Methanol Ausbeute: 50 % d.Th.

$C_{17}H_{16}N_2O_2$ (280,3)

Ber.: 72,84 % C 5,75 % H 9,99 % N

Gef.: 72,41 % C 5,74 % H 9,62 % N

9) Diacetyl-1-furyl-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline



0,1 g 1-Furyl-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline wird in wenig Benzol gelöst und mit Essigsäureanhydrid/Na-acetat in der Kälte acetyliert.

Schmp. 210°, aus Methylenchlorid Ausbeute: 50 % d.Th.

$C_{19}H_{18}N_2O_3$ (322,4)

Ber.: 70,80 % C 5,63 % H 8,69 % N

Gef.: 71,09 % C 5,59 % H 9,15 % N

10) Hydrochlorid von 6)

In eine Lösung von 0,2 g 1-Furyl-(2)-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline in 5 ml Chloroform wird unter Eiskühlung 5 Minuten lang trockener Chlorwasserstoff eingeleitet. Es bildet sich ein gelbgrüner Niederschlag, der aus gleichen Teilen Methanol, Ligroin und Äther umkristallisiert wird. Nach eintägigem Stehen scheiden sich dabei Kristalle an der Reagenzglaswand ab, die Hauptmasse jedoch ist zu einem schwarzen amorphen Produkt zer-
setzt worden.

Schmp. 185-90°

$C_{15}H_{15}Cl N_2O$ (274,7)

Ber.: 65,42 % C 5,49 % H 10,17 % N

Gef.: 65,19 % C 5,38 % H 9,25 % N

11) Pikrat von 6)

Die Lösungen von je 1 Mol 1-Furyl-(2)-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin und Pikrinsäure in Essigester werden warm zusammengegeben. Nach 30 Minuten saugt man die entstandenen Kristalle ab und kristallisiert mehrfach aus Äthanol um.

Schmp. oberhalb 180° unter Zersetzung

$C_{21}H_{17}N_5O_8$ (467,4)

Ber.: 53,97 % C 3,66 % H 14,98 % N

Gef.: 54,47 % C 3,67 % H 14,49 % N

12) Dünnschichtchromatographische Untersuchung der Reaktionsprodukte von N-Furfuryliden-Tryptamin mit 1 Mol Essigsäure bei 150°

N-Furfuryliden-Tryptamin und Essigsäure (1+1) wurden in Diäthylenglycoldimethyläther auf 150° erhitzt und aus dem Reaktionsgemisch nach 15 Min., 30 Min., 45 Min. und 60 Min. Proben entnommen. Die Dünnschichtchromatogramme der verschiedenen Proben zeigten keine Unterschiede in der Anzahl der auftretenden Flecken, sondern nur in deren Intensität. Es sind mindestens vier verschiedene Substanzen entstanden. Eine der gebildeten Verbindungen hat bei beiden verwendeten Fließmitteln den gleichen R_f -Wert und die gleiche Fluoreszenz wie 1-Furyl-(2)-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin.

Fließmittel I: Benzol + Aceton + konz. NH_3 45+45+10
Benzol und Aceton werden mit der konz. Ammoniaklösung durchgeschüttelt, sodann von der wässrigen Phase abgetrennt und anschließend durch ein Papierfilter filtriert.

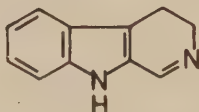
vgl. Abb. 2a

Fließmittel II: Tetrahydrofuran + Chloroform + konz.NH₃
70+20+10 (Bereitung in der gleichen
Weise wie bei I)

vgl. Abb. 2b

Als Absorptionsmittel wurde Kieselgel GF₂₅₄ Merck verwendet.

13) 3,4-Dihydro-β-carbolin aus 1-(1,2-Dihydroxy-äthyl)-
1,2,3,4-tetrahydro-β-carbolin



0,45 g 1-(1,2-Dihydroxy-äthyl)-1,2,3,4-tetrahydro-β-carbolin werden in 10 ml Dioxan gelöst und mit 100 ml einer 2%igen Na-perjodatlösung 5 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Das ausgeschiedene Na-jodat wird abfiltriert, die Lösung alkalisiert und mit Methylenchlorid extrahiert. Das aus dem Methylenchlorid - Auszug gewonnene gelbe Öl wird bei 0,01 Torr sublimiert. Bei 130-40° gehen farblose Kristalle über, die bereits analysenrein sind (Schmp. 95-6°); das folgende gelbe kristalline Produkt muß noch aus Essigester umkristallisiert werden.

Schmp. 185-90°

Ausbeute nach Umkristallisation: 50 mg (15 % d.Th.)

C₁₁H₁₀N₂ (170,2)

Ber.: 77,62 % C 5,92 % H 16,46 % N

Gef.: 76,62 % C 6,08 % H 15,72 % N

Die Schmelzpunktdifferenz der beiden Produkte ist auf die Ausbildung verschiedener kristalliner Modifikationen zurückzuführen. Dieselben voneinander abweichenden Schmelzpunktangaben finden sich bei den Autoren, die die Substanz durch Cyclisierung von Formyl-Tryptamin dargestellt haben^{33a,b,c}.

14) Dünnschichtchromatographische Untersuchung der Reaktionsprodukte von Tryptamin-acetat mit Arabinose bei 160°.

0,25 g Tryptamin (1 Mol) und 0,5 g Arabinose (2 Mol) wurden mit 0,1 ml Essigsäure (1 Mol) in 5 ml Wasser gelöst und im Bombenrohr 3 Stunden auf 160° erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde dann zunächst aus dem vorliegenden sauren Milieu (pH ca. 6) und anschließend aus alkalischem Milieu mit Methylenchlorid extrahiert. Von beiden Auszügen sind Dünnschichtchromatogramme hergestellt worden. Als Fließmittel wurde dabei verwendet:

Fließmittel I: Benzol + Aceton + konz.NH₃ 45+45+10
(Bereitung s.S.75)
vgl.Abb. 3a

Fließmittel II: Tetrahydrofuran + Chloroform + konz.NH₃
70+20+10 (Bereitung wie bei I)
vgl.Abb. 3b

Fließmittel III: Aceton + Chloroform + konz.NH₃
60+20+10 (Bereitung wie bei I)
vgl.Abb. 3c

Als Absorptionsmittel wurde Kieselgel GF₂₅₄ Merck verwendet.

15) Na-perjodat Oxydation des Reaktionsproduktes von
Tryptamin-acetat mit Arabinose.
Dünnschichtchromatographischer Nachweis von
3,4-Dihydro- β -carbolin.

Die mit Methylenchlorid extrahierte wäßrige Lösung .
der unter 12 beschriebenen Umsetzung wurde mit Salz-
säure auf einen pH von etwa 6-7 eingestellt, mit
Na-perjodat (4 Mol NaJO_4 /Mol Arabinose) versetzt und
18 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Von
ausgeschiedenem Na-jodat, das als Reduktionsprodukt
von Na-perjodat entsteht, wurde abfiltriert und dann
wieder zunächst aus saurem und anschließend aus alka-
lischem Milieu mit Methylenchlorid extrahiert. Zur
Herstellung der Dünnschichtchromatogramme von den
Methylenchlorid-Auszügen sind dieselben Fließmittel
wie unter 12 verwendet worden.

vgl. Abb. 3a-c

Die Chromatogramme des alkalischen Auszugs (D) und in
geringer Konzentration auch die des sauren Auszugs (C)
zeigen Flecken mit gleichen R_f -Werten und gleicher
Fluoreszenz wie 3,4-Dihydro- β -carbolin (13) bzw.
1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin (14).

Die R_f -Werte liegen für die einzelnen Fließmittel bei
folgenden Werten:

Fließmittel I: $R_f=3,7$

Fließmittel II: $R_f=6,2$

Fließmittel III: $R_f=6,9$

Als Absorptionsmittel wurde Kieselgel GF_{254} Merck
verwendet.

16) Umsetzung von Tryptamin-acetat mit Formaldehyd in Gegenwart von Na-perjodat bei Zimmertemperatur.

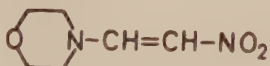
Die Lösung von 0,25 g Tryptamin und 0,1 ml Eisessig sowie 0,15 ml 30%iger Formaldehydlösung und 0,35 g Na-perjodat in 10 ml Wasser ist 18 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehengelassen worden und sodann sowohl aus saurem als aus alkalischem Milieu extrahiert worden.

Das Dünnschichtchromatogramm des Auszugs aus alkalischem Milieu mit dem Fließmittel III (Aceton + Chloroform + konz.NH₃ 60+20+10) ist in Abb. 5 wiedergegeben. Es zeigt keinen Fleck für 3,4-Dihydro- oder 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin.

Auch mit Fließmittel IV (Tetrahydrofuran + konz.NH₃ 90+10) sind diese Substanzen nicht nachzuweisen gewesen.

Als Absorptionsmittel wurde Kieselgel GF₂₅₄ Merck verwendet.

17) 1-Nitro-2-morpholino-äthylen



0,25 g 1-Nitro-2-dimethylamino-äthylen und 0,3 ml Morpholin in 10 ml Äthanol werden 1 Stunde lang zum Sieden erhitzt. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels liegt das Reaktionsprodukt kristallin vor.

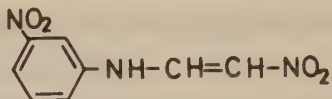
Schmp. 140°, aus Chloroform Ausb.: 88 % d.Th.

C₆H₁₀N₂O₃ (158,2)

Ber.: 45,56 % C 6,37 % H 17,71 % N

Gef.: 45,49 % C 6,35 % H 17,39 % N

18) 1-Nitro-2-m-nitranilino-äthylen



Man löst 0,2 g Kalium und 0,68 g m-Nitranilin unter Erwärmen in 5 ml Äthanol und fügt eine ebenfalls heiße Lösung von 0,58 g 1-Nitro-2-dimethylamino-äthylen in 5 ml Äthanol hinzu. Die Mischung wird 5 Minuten unter Rückfluß gekocht, wobei sich ein farbloser Niederschlag abscheidet. Dieser wird abfiltriert und die klare äthanolische Lösung bei 0° mit 50 ml Äther versetzt. Dabei fällt das Kaliumsalz des 1-Nitro-2-m-nitranilino-äthylens in kristalliner Form aus. Man löst es in etwa 5 ml Wasser auf und setzt durch Zusatz von einer konzentrierten KHCO_3 -Lösung 1-Nitro-2-m-nitranilino-äthylen in Freiheit.

Schmp. 197° , aus Acetonitril

Ausbeute: 38 % d.Th. (K-salz: 66 % d.Th.)

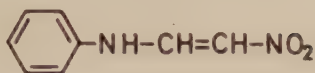
$\text{C}_8\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_4$ (209,2)

Ber.: 45,94 % C 3,37 % H 20,09 % N

Gef.: 46,38 % C 3,30 % H 19,72 % N

Nach der Vorschrift für 1-Nitro-2-m-nitranilino-äthylen können auch die Umsetzungen von 1-Nitro-2-dimethylamino-äthylen mit anderen aromatischen Aminen durchgeführt werden. Es sind auf diese Weise folgende Verbindungen dargestellt worden:

1-Nitro-2-anilino-äthylen



Schmp. 95-6°, aus Tetrachlorkohlenstoff

Ausbeute: 15 % d.Th. (K-salz: 38 % d.Th.)

$C_8H_8N_2O_2$ (164,2)

Ber.: 58,53 % C 4,91 % H 17,07 % N

Gef.: 57,90 % C 4,82 % H 16,15 % N

1-Nitro-2-p-bromanilino-äthylen



Schmp. 163-5° (Zers.), aus Chloroform + Tetrachlorkohlenstoff (1+1)

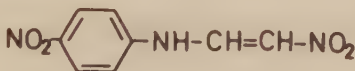
Ausbeute: 40 % d.Th. (K-salz: 62 % d.Th.)

$C_8H_7N_2O_2Br$ (243,1)

Ber.: 39,53 % C 2,84 % H 11,53 % N

Gef.: 39,25 % C 2,89 % H 11,59 % N

1-Nitro-2-p-nitranilino-äthylen



Schmp. 170°, aus Methanol

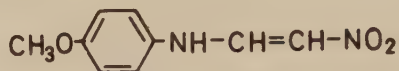
Ausbeute: 38 % d.Th. (K-salz: 55 % d.Th.)

$C_8H_7N_3O_4$ (209,2)

Ber.: 45,94 % C 3,37 % H 20,09 % N

Gef.: 45,47 % C 3,67 % H 19,63 % N

1-Nitro-2-p-methoxyanilino-äthylen



Schmp. 128°, aus Isopropanol

Ausbeute: 52 % d.Th. (K-salz: 77 % d.Th.)

C₉H₁₀N₂O₃ (194,2)

Ber.: 55,66 % C 5,19 % H 14,43 % N

Gef.: 55,47 % C 5,04 % H 14,13 % N

1-Nitro-2-p-toluidino-äthylen



Schmp. 133-4°, aus Isopropanol

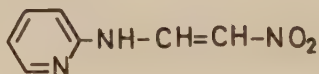
Ausbeute: 41 % d.Th. (K-salz: 71 % d.Th.)

C₉H₁₀N₂O₂ (178,2)

Ber.: 60,66 % C 5,66 % H 15,72 % N

Gef.: 60,89 % C 5,67 % H 15,81 % N

1-Nitro-2-(pyridyl-2-amino)-äthylen



Schmp. 132-4°, aus Isopropanol

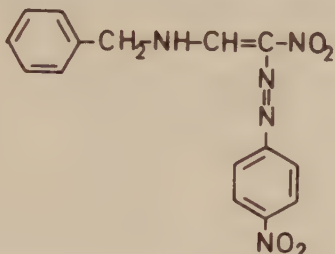
Ausbeute: 24 % d.Th. (K-salz: 50 % d.Th.)

C₇H₇N₃O₂ (165,2)

Ber.: 50,91 % C 4,27 % H 25,44 % N

Gef.: 50,28 % C 4,26 % H 25,25 % N

19) 1-Nitro-1-p-nitrophenylazo-2-benzylamino-äthylen



0,58 g 1-Nitro-2-dimethylamino-äthylen und 0,55 ml Benzylamin werden 2 Stunden in 30 ml Tetrahydrofuran gekocht. Nach dem Eindampfen des Lösungsmittels nimmt man den öligen Rückstand in 10 ml Wasser auf und fügt unter Eiskühlung eine Lösung von 0,78 g p-Nitrophenyldiazotat in 15 ml Eisessig hinzu. Nach 1/2 stündigem Stehen bei 0° wird der ausgeschiedene dunkelrote, kristalline Niederschlag aus Essigester umkristallisiert.

Schmp. 178°

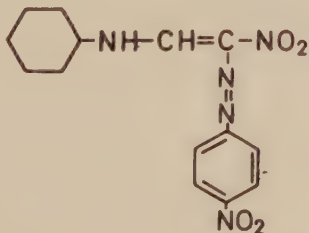
Ausbeute: 36 % d.Th.

$C_{15}H_{13}N_5O_4$ (327,3)

Ber.: 55,04 % C 4,00 % H 21,40 % N

Gef.: 55,25 % C 4,00 % H 21,25 % N

20) 1-Nitro-1-p-nitrophenylazo-2-cyclohexylamino-äthylen



In gleicher Weise wie 1-Nitro-1-p-nitrophenylazo-2-benzylamino-äthylen ist auch 1-Nitro-1-p-nitrophenylazo-2-cyclohexylamino-äthylen dargestellt worden.

Schmp. 145⁰, aus Isopropanol

Ausbeute: 34 % d.Th.

$C_{14}H_{17}N_5O_4$ (319,3)

Ber.: 52,66 % C 5,37 % H 21,93 % N

Gef.: 52,39 % C 5,58 % H 21,52 % N

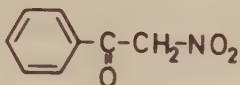
21) Umsetzung von 1-Nitro-2-phenyl-2-dimethylamino-äthylen mit Kalium-methylat.

0,48 g 1-Nitro-2-phenyl-2-dimethylamino-äthylen wird in 3 ml Methanol gelöst und zusammen mit einer Lösung von 0,1 g Kalium in 2 ml Methanol 5 Minuten gekocht. Der ausgeschiedene farblose Niederschlag wird abgesaugt, wiederholt mit Methanol gewaschen und bei Zimmertemperatur im Vakuum getrocknet.

Das Produkt erwies sich nach seinem IR-Spektrum identisch mit dem auf folgende Weise hergestellten Kaliumsalz von ω -Nitroacetophenon:

Die Lösungen von 100 mg ω -Nitroacetophenon in 3 ml Methanol und von 0,25 g Kalium in 2 ml Methanol werden zusammengegeben. Das Kaliumsalz fällt sofort als farbloser Niederschlag aus.

- 22) ω -Nitroacetophenon aus 1-Nitro-2-phenyl-2-dimethyl-amino-äthylen.



Das nach der vorhergehenden Vorschrift erhaltene Kaliumsalz wird in 5 ml Wasser gelöst und mit Essigsäure im Überschuß versetzt. Der entstehende farblose kristalline Niederschlag wird aus Wasser umkristallisiert.

Schmp. 108°

Das IR-Spektrum des Produktes ist identisch mit dem von ω -Nitroacetophenon.

Diese Arbeit wurde in dem von

Herrn Professor Dr. Horst Böhme

geleiteten Institut für Pharmazeutische Chemie und
Lebensmittelchemie auf Anregung und unter Anleitung
von

Herrn Professor Dr. Theodor Severin

angefertigt.

Für die großzügige Förderung und Unterstützung der
vorliegenden Arbeit spreche ich Herrn Professor
Dr. H. Böhme und Herrn Professor Dr. Th. Severin
meinen herzlichen Dank aus.

Lebenslauf

Am 8. August 1938 wurde ich als zweite Tochter des Kaufmanns Klaus Heidenhain und seiner Ehefrau Hertha, geb. Weiß, in Königsberg/Pr. geboren.

Im Sommer 1944 verließen wir Königsberg und im September desselben Jahres wurde ich in Seebruck am Chiemsee eingeschult. 1949 verlegten meine Eltern ihren Wohnsitz nach Düsseldorf, wo ich 1957 auf der städtischen Cecilien-schule die Reifeprüfung ablegte.

Meine nachfolgende Praktikantenzeit in der Oberkasseler-Apotheke in Düsseldorf-Oberkassel bei Herrn Apotheker Oscar Pöhler schloß ich im Frühjahr 1959 mit dem pharmazeutischen Vorexamen ab.

Nach sechssemestrigem Studium der Pharmazie in Freiburg/BrsG. bestand ich am 13.3.1962 die pharmazeutische Staatsprüfung. Anschließend daran war ich ein Jahr als Kandidatin in der Adler-Apotheke in Remscheid tätig und erhielt im Mai 1963 die Bestallung als Apotheker.

Im Sommersemester 1963 nahm ich an der Universität Marburg/Lahn mein Studium wieder auf und arbeite seitdem unter Leitung von Herrn Professor Dr. Theodor Severin an meiner Dissertation. Seit Februar 1964 bin ich als wissenschaftliche Hilfskraft an dem von Herrn Professor Dr. Horst Böhme geleiteten Institut für Pharmazeutische Chemie und Lebensmittelchemie beschäftigt.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren: Jander, Lüttringhaus, Merz, Mohr, Musso, Oehlkers, Pohl, Preuß, Schmid, Severin und v.Stosch.

